UNTERSUCHUNGEN

AUS DEM

PHYSIOLOGISCHEN INSTITUTE

DER

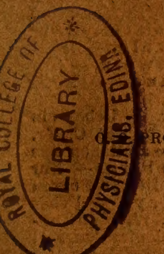
UNIVERSITÄT HEIDELBERG.

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. W. KÜHNE,

PROFESSOR DER PHYSIOLOGIE UND DIRECTOR DES PHYSIOLOGISCHEN INSTITUTS.

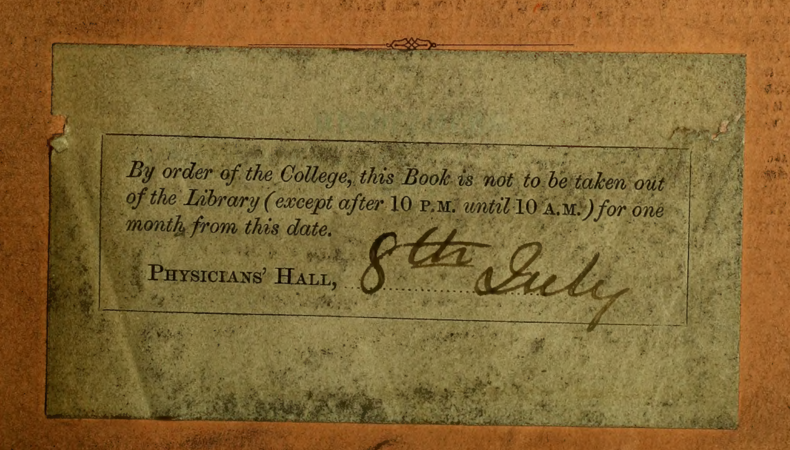


BAND IV. HEFT 3.

15. ERGÄNZUNGSHEFT ZU DEN VERHANDLUNGEN DES NATURHISTORISCH-MEDICINISCHEN VEREINS ZU HEIDELBERG.

INHALT.

MIT EINER LITHOGRAPHIRTEN TAFEL.



Diese Untersuchungen erscheinen in zwanglosen, auch einzeln käuflichen Heften, deren vier einen Band bilden.

Erschienen sind bereits:

Band I. Heft 1. Inhalt: Zur Photochemie der Netzhaut (2. Abdruck) von W. Kühne. — Ueber den Sehpurpur von W. Kühne. — Mit 1 Tafel. gr. 8°. brosch. 3 M. 60 Pf.

Heft 2. Ueber die Verbreitung des Sehpurpurs im menschlichen Auge von W. Kühne. — Weitere Beobachtungen über den Sehpurpur des Menschen von W. Kühne. – Zur Chemie der Altersveränderungen der Linse von Dr. med. M. Knies. — Das Sehen ohne Sehpurpur von W. Kühne. — Untersuchungen über den Sehpurpur von A. Ewald und W. Kühne. — Kurze Anleitung zur Verwendung der Verdauung in der Gewebsanalyse von W. Kühne. — Mit 4 Holzschnitten. gr. 8°. brosch. 4 M.

Heft 3. Ueber die Darstellung von Optogrammen im Froschauge von W. Kühne. — Eine Beobachtung über das Beleuchten der Insectenaugen von W. Kühne. — Untersuchungen über den Sehpurpur. (Fortsetzung von Heft 2.) Von A. Ewald und W. Kühne. — Erfahrungen und Bemerkungen über Enzyme und Fermente von W. Kühne. — gr. 8°. brosch. 3 M. 60 Pf.

Heft 4. Versuche zur vergleichenden Physiologie der Verdauung mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse bei den Fischen von C. Fr. W. Krukenberg. — Ueber lichtbeständige Farben der Netzhaut von W. Kühne. — Untersuchungen über den Sehpurpur (Schluss) von A. Ewald und W. Kühne. — Bemerkungen über den Nachweis von Enzymen in der Unterkieferdrüse des Kaninchens von J. N. Langley. — Zur Physiologie der Speichelabsonderung von J. N. Langley. — Mit 6 Tafeln. gr. 8°. brosch. 8 M. 80 Pf.

Band II. Heft 1. Vergleichend-physiologische Beiträge zur Kenntniss der Verdauungsvorgänge von C. Fr. W. Krukenberg. — Beobachtungen über Druckblindheit von W. Kühne. — Ueber die Stäbchenfarben der Cephalopoden von C. Fr. W. Krukenberg. — Erwiderung auf einen Angriff des Herrn Hoppe-Seyler von W. Kühne. — Beobachtungen an der frischen Netzhaut des Menschen von W. Kühne. — Ueber Sehpurpur und Retinaströme von Frithiof Holmgren. — Fortgesetzte Untersuchungen über die Retina und die Pigmente des Auges von W. Kühne. — Mit 3 Tafeln. gr. 8°. brosch. 7 M.

Heft 2. Zur Histologie der Nervenfaser und des Axencylinders von Dr. Th. Rumpf. — Zur Histologie der motorischen Nervenendigung von W. Kühne. — Ueber Regeneration des Sehpurpurs beim Säugethiere von W. C. Ayres und W. Kühne. — Ueber die entoptische Wahrnehmung der Macula Lutea und des Sehpurpurs von Dr. August Ewald. — Notiz über die Wirkung des Silbernitrats auf die Nervenfaser von L. v. Morochowetz. — Zur Abwehr einiger Irrthümer über das Verhalten des Sehpurpurs (von W. Kühne). — Notiz über die Netzhaut der Eule (von W. Kühne). — gr. 8°. brosch. 6 M.

Heft 3. Zur Verdauung bei den Krebsen von C. Fr. W. Krukenberg. — Ueber ein peptisches Enzym im Plasmodium der Myxomyceten und im Eidotter vom Huhne von C. Fr. W. Krukenberg. — Mangan ohne nachweisbare Mengen von Eisen in den Concretionen aus dem Bojanus'schen Organe von Pinna squamosa Gm. von C. Fr. W. Krukenberg. — Zur Dünndarmverdauung von Dr. med. A. Masloff. — Zur Degeneration durchschnittener Nerven von Dr. Th. Rumpf. — Ueber das braune Pigment des Auges von Dr. Karl Mays. — Ueber die Enzymbildung in den Geweben und Gefässen der Evertebraten von C. Fr. W. Krukenberg. — Nachtrag zu den Untersuchungen über die Ernährungsvorgänge bei Cölenteraten und Echinodermen von C. Fr. W. Krukenberg. — Notizen zur Anatomie und Physiologie der Netzhaut. — gr. 8°. brosch. 3 M. 60 Pf.

Heft 4. Zur Verdauung bei den Fischen von C. Fr. W. Krukenberg. — Ueber die Verdauungsvorgänge bei den Cephalopoden, Gastropoden und Lamellibranchiaten von C. Fr. W. Krukenberg. — Notizen zur Literatur über die vergleichende Physiologie der Nutritionsprocesse von C. Fr. W. Krukenberg. — Ueber die Entstehung von Hypoxanthin aus Eiweissstoffen von R. H. Chittenden. Ph. B. (aus New-Haven. Con. U.-S. A.). — Zur Chemie der Descemet'schen Membran von H. F. A. Sasse, cand. med. aus Zaandam. — Beiträge zur Histochemie des Sehepithels von R. H. Chittenden. — Zum chemischen Verhalten des Sehpurpurs von W. C. Ayres. — Beobachtungen über die Absonderung des Pankreas von W. Kühne und A. Sh. Lea, mitgetheilt von W. Kühne. — Bemerkungen zu Herrn Hoppe-Seyler's Darstellung der Optochemie von W. Kühne. — Mit 2 Holzschnitten und 5 Tafeln. gr. 8°. brosch. 7 M. 40 Pf.

Band III. Heft 1/2. Ueber das Verhalten des Muskels zum Nerven von W. Kühne. — Beobachtungen über markhaltige und marklose Nervenfasern von W. Kühne und J. Steiner. — Histochemische Untersuchungen über das Sarkolemm und einige verwandte Membranen von R. H. Chittenden. Ph. B. (aus New Haven. Conn. U. S. A.) — Notiz über die Netzhautfarbe belichteter menschlicher Augen. — Mit 7 Holzschnitten und 2 Tafeln. gr. 8°. brosch. 8 M. 80 Pf.

Heft 3/4. Vergleichend-physiologische Beiträge zur Chemie der contractilen Gewebe von C. Fr. W. Krukenberg. — Zur Physiologie des Sehepithels insbesondere der Fische von W. Kühne und H. Sewall (aus Baltimore). — Ueber die Retinaströme von Dr. Frithiof Holmgren. — Ueber das electromotorische Verhalten der Netzhaut von W. Kühne und J. Steiner. — Ueber die Wirkung von Trypsin in Säuren und von Pepsin und Trypsin aufeinander von Dr. Karl Mays. — Zur Wirkung des Curare von J. Steiner. — Verhalten des Sehpurpurs gegen dunkle Wärmestrahlen von Ferd. Klug. — Mit 5 Holzschnitten und 1 lithographirten Tafel. gr. 8°. brosch. 8 M. 20 Pf.

Band IV. Heft 1/2. Ueber den Modus der Nervenverbreitung im electrischen Organ von Torpedo und die Bedeutung desselben für die Physiologie der Entladung des Organs von Dr. August Ewald. — Untersuchung der Fleischextracte verschiedener Fische und Wirbellosen von C. Fr. W. Krukenberg. — Ueber electrische Vorgänge im Sehorgane von W. Kühne und J. Steiner. — Mit 13 Holzschnitten und 4 Tafeln. gr. 8°. brosch. 9 M.

Heft 3. Beiträge zur Optochemie von W. Kühne. — Ueber die Verbreitung des Guanin, besonders über sein Vorkommen in der Haut von Amphibien, Reptilien und von Petromyzon fluviatilis von A. Ewald und C. Fr. W. Krukenberg. — Ueber chemische Reizungen, nach Versuchen von stud. med. Curt Jani mitgetheilt von W. Kühne. — Ueber secundäre Wirkung vom Herzen auf Muskeln von Dr. R. J. Anderson aus Belfast. — Beobachtungen zur Anatomie und Physiologie der Retina von W. Kühne. — Mit 1 Tafel. gr. 8°. brosch. 6 M.

Heidelberg.

Carl Winter's Universitätsbuchhandlung.

Beiträge zur Optochemie.

Von

W. Kühne.

I. Die Präexistenz der Chromophane.

(Mit Taf. V.)

Chromophane habe ich die Stoffe genannt, welche den färbenden Bestandtheil der bunten Oelkugeln in den Zapfen der Netzhaut bilden und nach Verseifung des Fettes von diesem getrennt, durch verschiedene Lösungsmittel einzeln erhalten werden[1]. Aus der Vogelretina war es *Ayres* und mir[2] gelungen drei solcher Fettfarbstoffe abzuscheiden, den Färbungen der Zapfenkugeln entsprechend einen rothen, einen orangefarbenen und einen gelbgrünen, während wir mittelst derselben Methode aus dem homogen gefärbten Fette des Eidotters, der corpora lutea, des Froschfettes und der gelben Kugeln des Epithels der Froschretina nur je einen Farbstoff zu gewinnen vermochten.

Unerwarteter Weise sind gegen die Präexistenz und Unterscheidbarkeit der Chromophane, deren übereinstimmendes Aussehen mit den Färbungen der Zapfen innerhalb der Retina von Augenzeugen nur überraschend gefunden wurde, Widersprüche erhoben worden, von 2 Seiten und auf verschiedene Begründungen hin: von *G. Wälchli*[3] vornehmlich auf Grund spectraler Be-

---

[1] Handb. d. Physiol., herausg. von *L. Hermann*. Bd. III. 1. S. 290.

[2] Diese Unters. I. S. 341.

[3] *v. Græfe*'s Arch. f. Ophthalmol. XXVII. 2. S. 303.

obachtungen, von *F. Hoppe-Seyler*[1]) in Folge chemischer Betrachtungen; beide begegnen sich aber darin, daß sie die isolirten Chromophane weder gesehen noch darzustellen versucht haben.

Wälchli behauptet, die Absorptionsspectra der retinalen Oelkugeln seien so verschieden von den durch *Ayres* und mich den Chromophanen zugeschriebenen, daß auf ein verfehltes chemisches Verfahren der Isolirung der Pigmente zu schließen sei, während *Hoppe-Seyler* die spectralen Unterschiede ebenso wie die der natürlichen Färbung für nichtssagend erklärt und nach dem chemischen Verhalten das Vorkommen verschiedener Zapfenfarbstoffe bezweifelt. So kommt der Eine zwar mit uns zu dem Schlusse, daß die Vogelretina mindestens 3 Farbstoffe enthalte, aber 3 neue statt der Chromophane, während der Andere der, wie wir hofften, ausschließlich dem Marchese *Stefano Capranica*[2]) gehörenden Meinung Raum läßt, daß nur ein Farbstoff die bekannten Nuancen vom Purpur bis zum Gelbgrün bedinge.

1. Widerlegung der von Wälchli vorgebrachten Einwände.

Herr *Wälchli* beginnt mit dem Vorwurfe, daß ich die älteren mikrospectroskopischen Befunde *Talma*'s[3]) an den Zapfenkugeln der Vogelretina, welche unseren Chromophanspectren „widersprächen", nicht „weiter beachte" und daß ich das *Browning*'sche Spectralocular, womit *Talma* gearbeitet hatte, nicht genügend würdige. Ich erwidere darauf zunächst summarisch, 1. daß *Talma*'s thatsächliche Befunde nirgends mit den unsrigen im Widerspruche sind, 2. daß Herr *Wälchli* selber genöthigt war an Stelle des *Browning*'schen Apparats einen neuen „besseren" zu benutzen.

In der Arbeit *Talma*'s werden auf kaum einer halben Seite

---

1) Physiol. Chemie. S. 697.
2) Arch. f. Anat. und Physiol. Physiol. Abth. 1879. S. 283.
3) Onderzk. g. i. h. physiol. Lab. t. Utrecht. III. Bd. II. S. 259.

weitesten Druckes sehr schmale, jederseits „oval" abschneidende, der Länge nach von „dunklen Rändern" begrenzte Absorptionsspectra beschrieben. Nach Aussage dieser Spectra ergaben die rothen Kugeln Absorption „allen Lichtes" etwa von *D* an bis zum Ende des Violett, die orangefarbenen „allen Lichtes" von einem Punkte zwischen *D* und *b* an, die gelben und grünen Kugeln „vielleicht ein wenig" Einschränkung beider Enden des Spectrums, von welchem sie nur die „gelben und grünen" Strahlen ungehindert durchließen. Darin und in der resümirenden Bemerkung, daß die Spectra „volkomen continu" erschienen und dunklerer Absorptionsbänder „geheel en al" entbehrten (wie sich von selbst verstand, wo „alles Licht" einer Seite absorbirt war), soll nach *Wälchli* ein Widerspruch, den wir zu erklären oder zu beseitigen verpflichtet gewesen wären, liegen gegen unsere Entdeckung der Absorptionsstreifen der Chromophane. Da man weder von Herrn *Wälchli*, noch von den Herren *Donders* und *Engelmann*, unter deren Leitung Herr *Wälchli* arbeitete, die Absicht voraussetzen darf, die im physiologischen Institute zu Utrecht unter derselben Leitung entstandenen Beobachtungen *Talma*'s mehr als zulässig in den Vordergrund zu stellen, so ist es klar, daß bei der Verweisung auf dieselben und auf das hinzugefügte, nichts präjudicirende Negativum wirklich die allereinfachste und nächste, dem Leser wie selbstverständlich einfallende Ueberlegung vergessen wurde, daß man über An- oder Abwesenheit von Absorptionsstreifen nur zu entscheiden pflegt, indem man die Concentration oder Schichtendicke des Absorbenten variirt, was bei den Zapfenkugeln von *Talma* gar nicht, von Herrn *Wälchli*, wie wir noch sehen werden, ganz ungenügend versucht wurde. Uns selber gegen Herrn *Talma* im Widerspruche zu finden, wäre also kaum loyal gewesen und wir müssen bekennen, trotz der Bekanntschaft mit seinen vorsichtigen Angaben, von dem Anblicke der gestreiften Chromophanspectra gar nicht überrascht worden zu sein, da die

Bänder ohne Ausnahme in Regionen fielen, in denen er bereits Absorption bemerkt hatte. Wenn Herr *Talma* heute einen Nachfolger findet, der aus der Bezeichnung: „continuirliches Spectrum“ ein Schlagwort macht, so ist er dafür nicht verantwortlich und noch weniger dafür, daß dieser Widersprüche, die er aus eigenen neueren Beobachtungen gegen die unsrigen schöpft, so darstellt, als ob sie schon in denen seines Vorgängers enthalten gewesen seien, und als „außerordentliche Differenzen“ bezeichnet. Herrn *Wälchli* muß dies gesagt werden, weil er den Punkt, auf welchen es bei den uns zu *Talma*'s Gunsten gemachten Vorhaltungen allein ankam, nirgends berührt, daß eben nicht in der älteren, sondern erst in seiner neueren Arbeit von dem nothwendigen Versuche, die Zapfenkugeln abzuplatten, die Rede ist und weil er mit den seine Befunde einleitenden Worten: „zunächst ergab sich im Allgemeinen eine Bestätigung der *Talma*'schen Resultate“, nachherkommende und niemals als solche bezeichnete wichtige Differenzen abschwächt, die er gegen *Talma* geltend zu machen hätte. Im Besonderen ergiebt die Durchsicht seiner Resultate 1. für die rothen Kugeln wohl Verdunklung von *D* an, aber 2 Maxima der Absorption, also ein Spectrum, das der Bezeichnung „volkomen continu“ schwerlich entspricht; 2. für die orangefarbenen bald Absorption vor *b*, wie es *Talma* wollte, bald aber hinter *b* beginnend und möglichst deutlich zwischen *b* und *F* in dem Spectrum, das Herr *Wälchli* zum vermeintlichen Gegensatze gegen unsre Zeichnung des Xanthophanstreifens abbildet[1]); 3. für die gelbgrünen Kugeln, auf deren Absorption des rothen Lichtes Herr *Wälchli* gegen meine Angaben über das Chlorophan wiederholt besonderes Gewicht legt, unter seinen sämmtlichen Beobachtungen nur einmal schwache Einschränkung des rothen Spectralendes und dies wunderbarer Weise grade in einem Falle,

---

1) l. c. Taf. XII. Fig. 2 *a* und *b*.

wo die Kugel, *Talma*'s Angaben entgegen, auch rein blaues Licht unverändert durchließ[1]. Wer andere gern im Widerspruche mit älteren einfach überholten Beobachtungen findet, sollte nicht von Bestätigung reden, wo er selber größtentheils in wirklichem Widerspruche mit seinem Vorgänger steht. Es ist dies Herrn *Wälchli*'s Fall, denn abgesehen von den Befunden an den orangefarbenen oder gelben Kugeln, die sich aus Verschiedenheiten der Concentration oder Dicke erklären werden, sind die von den rothen und gelbgrünen Kugeln mitgetheilten nicht mit denen *Talma*'s zu vereinigen.

Das Verhältniß der Chromophanspectra zu den *Talma*'schen Beobachtungen ist hiermit als erledigt zu betrachten. Wie stellen sich aber unsere Angaben zu denen *Wälchli*'s? Hier finden sich vielleicht Widersprüche, aber diese würden ausschließlich mit Differenzen zusammenfallen, in die Herr *Wälchli* mit sich selber gerieth. An den grünen Kugeln fand er die Verdunklung bei λ 0,49 μ und λ 0,505 μ beginnend und keine Einschränkung des rothen Endes, was mit dem Chlorophan noch stimmen würde, dessen erster Streif zwischen λ 0,46 μ und λ 0,48 μ fällt, während der 2. Streif bei λ 0,43 μ auftritt, wo Herr *Wälchli* in allen Fällen Verdunklung fand. In einem Falle verzeichnet Herr *Wälchli* aber den Beginn bei λ 0,47 μ und dazu Absorption im Roth von 0,68 - 0,70, was weder mit dem Chlorophan noch mit den übrigen Angaben *Wälchli*'s stimmt. Käme die so bestimmt behauptete Absorption im Roth nicht hinzu, so würden sich die Beobachtungen so gut untereinander, wie mit den meinigen vertragen und nichts ausdrücken, als die Erscheinungen verschieden concentrirter Farbstofflösungen, aber Verdunklung des Roth ausschließlich durch die dünnere Schicht des gleichen Pigments in gleichem Medium (eine Voraussetzung, die Herr *Wälchli*

[1] l. c. Taf. XII. Fig. 3 *a*.

machen mußte, wenn seine Verwendung des Falles Sinn haben sollte) ist einfach unmöglich. Es liegt mir fern, trotz der Schwierigkeit, die ich mit andern Beobachtern bei Entscheidung über schwache Verdunklung im ersten Roth finde, Herrn *Wälchli* hier eines Irrthums zu zeihen, den man ja um so weniger annehmen darf, als er diesen Fall, auf den er sich immer wieder gegen mich beruft, gewiß mit ungewöhnlicher Sorgfalt beobachtet hat; ich muß aber darauf aufmerksam machen, daß Herr *Wälchli* von den grünen Kugeln ausschließlich dieses Minoritätsspectrum abbildete und es in einer Weise that, welche dem Beschauer falsche Vorstellungen von dem wirklich gesehenen erweckt. Ohne Ausnahme schickt Herr *Wälchli* seinen numerischen Angaben die der Länge des freien Spectrums von λ 0,70—0,40 μ voraus, während er es in den Abbildungen bei λ 0,75 μ beginnen läßt. Dagegen wäre nichts einzuwenden, besonders wenn man den Grund zufällig erfährt, daß Taf. XII l. c. ein Abdruck der lithographirten Scala ist, die Herr *Zeiss* in Jena seinen Instrumenten beigiebt, was Herr *Wälchli* übrigens hätte sagen können: er kommt aber damit in die Lage, die einzige Absorption im Roth doppelt so imposant darzustellen, als er sie wirklich bemerkte, indem er die nicht gesehene Anfangsregion allen übrigen Spectren weiß, dem der grünen Kugel schwarz zugiebt und überdies den Gang der Curve in das ungesehene Stück hinein verlängert. Schneidet man die ganze Tafel, um sie richtig zu machen, bei λ 0,70 ab, so kommt der wahre Sachverhalt zum Vorschein und dieser besteht in einer ganz schwachen, diffus begrenzten Absorption innerhalb der auf dieser Seite äußerst kurzen Strecke von 2 Wellenlängen in einer von vornherein lichtschwachen Region. Hat Herr *Wälchli* dennoch richtig beobachtet, so versteht man nicht, wie er dies mit seinen nicht abgebildeten Spectren andrer grünen Kugeln vereinbar fand und nicht selber darauf kam, die Färbung entweder von gemischten oder von

verschiedenen Pigmenten, wenn nicht von Dispersionsdifferenzen im ungefärbten Materiale der Zapfenkugeln abzuleiten: freilich wäre er dann um einen Gegensatz gegen mich ärmer geworden, ja er hätte den eigenen Frieden um den vollkommenen mit den Chromophanen erkaufen müssen; und den letzteren konnte er leicht haben, denn wie oft er auch zu dem „continuirlichen Spectrum" als Argument zurückkehrt, das allein gegen die Chromophanstreifen übrig bliebe, er wird niemanden von deren Abwesenheit überzeugen können, so lange es ihm nicht gelingt, die Kugeln genügend zu verdünnen, und nicht entfernt die Aufhellungsweise der Spectra voraussagen können, nachdem er dieselben allein von concentrirteren Absorbenten kennen gelernt hatte. Oder werden etwa nur anormale Dispersion oder Streifen mit totaler Absorption aufweisende Spectra discontinuirlich genannt? Ich hätte nichts gegen den Gebrauch und muß deshalb erwähnen, daß wir den Namen für die Chromophanspectra, denen Herr *Wälchli* ihn unaufgefordert gab, niemals brauchten, sondern einfach deren Absorptionsstreifen objectiv beschrieben und abgebildet haben mit dem ausdrücklichen Zusatze, daß wir keine photometrische Bestimmungen vornahmen, also weder über totale noch über irgend welche Absorptionen, die nur auf diesem Wege zu ermitteln gewesen wären, etwas aussagen konnten und wollten.

Ist somit Herr *Wälchli* um sein Schlagwort gebracht, so bleibt ihm nichts übrig, als die Berufung auf seine Abplattungsversuche an den Zapfenkugeln und wer sich deren Resultate l. c. Fig. 1 *b* und 1 *c* ansieht, kann es nur für recht wahrscheinlich halten, daß die rothen Kugeln den breiten diffusen Absorptionsschatten, welchen wir vom Rhodophan erhielten, zum Vorschein gebracht hätten, wenn die Verdünnung nur weiter getrieben wäre. Darum hat sich Herr *Wälchli* nicht bemüht: er blieb bei jenen zwei Versuchen stehen und dehnte sie nicht einmal auf die orangefarbenen Kugeln aus, obwohl er das denkbar merkwürdigste

Resultat erzielt hatte, daß das erste Maximum der verdünnten Kugel grade an der Stelle auftrat, wo die dickere das erste Minimum zeigte, eine Erscheinung, welche ihn mindestens von der Unmöglichkeit, den Erfolg der Verdünnung vorauszusagen, unmittelbar hätte überzeugen müssen.

Wie Herr *Wälchli* mit Recht von mir sagt, räume ich der Mikrospectralanalyse zur Entscheidung der Präexistenzfrage bei den Chromophanen die erste Stelle ein und ich hätte dieselbe auch benutzt, wenn die mir erreichbaren Apparate besser gewesen wären, namentlich wenn ich das neuere Spectralocular von *Zeiss*, das Herr *Wälchli* benutzen durfte, früher hätte bekommen können. Herr *Wälchli* versichert jedoch, daß man alle seine Beobachtungen auch mit dem älteren *Browning*'schen Instrumente constatiren könne und behandelt meine Aussetzungen gegen den auch von ihm bemängelten Apparat als Auslassungen über „angeblich" ungeeignete Construction der käuflichen Instrumente. Ohne der Höflichkeit zu nahe zu treten, sehe ich ihn nur die bekannte Erfahrung bestätigen, daß man mit unvollkommenen Instrumenten schließlich auch erkennt, was man mit besseren erst gefunden hat und brauche ich ihn zum Belege nur auf die von ihm selber erst mit dem neuen Apparate gefundenen Thatsachen zu verweisen, welche von den *Talma*'schen Angaben abweichen. Im Uebrigen darf gesagt werden, daß ich mit den auf die mikrospectralanalystische Untersuchung gesetzten Hoffnungen keineswegs jede Arbeit, die sich derselben bedienen würde, als entscheidend anerkennen wollte und nur in dem Falle einem bündigen Resultate entgegensah, daß sich volle Uebereinstimmung mit den Chromophanspectren ergäbe, was, wie ich von vornherein andeutete, nicht durchweg zu erwarten war, da manche Zapfenkugeln ohne Zweifel Mischungen mehrerer Pigmente enthalten. Herr *Wälchli* gedenkt dieser meiner Aeußerung etwa wie eines inneren Widerspruchs, ohne seine Leser ahnen zu lassen, daß

zweierlei Farbstoffe in einer Zapfenkugel, wie bei mir zu lesen stand, längst von *Schwalbe* beschrieben wurden, und unter vollkommener Ignorirung meiner Erwähnung ersichtlicher Differenzen rother und purpurrother Pigmente in den Zapfen der Taube. Die Zeit wird kommen, da Herr *Wälchli* dies selber bedauern wird, denn sein Paradoxon des grünen Farbstoffs, der bald Roth absorbirt und wenig Blau, bald kein Roth und alles Blau kann der Annahme gemischter Pigmente schwerlich entbehren, um eine verständliche Thatsache zu werden.

Am Schlusse dieser Abhandlung werde ich die Kritik der *Wälchli*'schen Beobachtungen vollenden; hier mußte erst gezeigt werden, daß dieselben, auch wenn sie vollkommen richtig sein sollten, nichts enthalten, was gegen die Präexistenz der Chromophane zeugen würde. Herrn *Wälchli* konnte dies nur entgehen, weil er die Nachwirkungen jenes, in der Besorgniss um die *Talma*'schen Verdienste zu Ungunsten der Chromophanlehre einmal begangenen Lapsus zu tragen hatte und weil er sich außerdem auf das chemische Gebiet begab, auf dem er nicht arbeitete und beobachtete, sondern belehren wollte.

Als ich die Darstellung der einzelnen Chromophane aus der Retina unternahm, habe ich selbst zunächst Bedenken gegen die befolgte Methode gehabt und geäußert, aber nach dem erzielten Erfolge kaum erwartet, daß mir die eigene Vorsicht beinahe mit meinen Worten wieder vorgehalten würde, wie es durch Herrn *Wälchli* geschah, der fast so redet, als ob mir die Frage nach der Präexistenz chemischer Educte aus thierischen Geweben etwas neues sei. Indeß bin ich der Belehrung zugänglich und ich würde mir den ernsten Hinweis auf die Zersetzlichkeit des Hämoglobins durch Alkohol, Aetznatron u. s. w. jetzt noch gesagt sein lassen, wenn ich nicht wüßte, was Herrn *Wälchli*'s Erfahrung unmöglich scheint, daß es eine ganze Reihe von thie-

rischen Farbstoffen und grade von solchen der Fette giebt, die jene Behandlung ohne Aenderung der optischen und chemischen Eigenschaften, auch der Krystallform vertragen, also nicht zersetzt werden. Bekanntlich haben viele vor mir dies schon angenommen, denn kein Chemiker bezweifelte bisher die Identität der durch Verseifung z. B. aus dem Eigelb, den corpora lutea und aus einigen Pflanzen dargestellten Fettpigmente mit den genuinen: weder *Lieben* und *Piccolo*, noch *Holm* und *Städeler* fanden dazu Grund und meines Wissens ist ihnen der Einwand Zersetzungsproducte abgeschieden zu haben, niemals gemacht worden, obgleich das Fett der corpora lutea z. B. tagelang mit concentrirtester Kalilauge erhitzt worden war. Daß die Fettfarbstoffe der Vogelretina jenen Pigmenten verwandt seien, ging aus mehreren Reactionen der Zapfenkugeln hervor und es ist ein Mißverständniß von Herrn *Wälchli*, wenn er mir, dem zuerst die Freude wurde, diese Reactionen außerhalb der Retina an den Chromophanen wieder zu finden, vorhält, dieselben erwiesen deren Präexistenz nicht, da ich es grade gewesen war, der die zu ausschließlich darauf gestützte Meinung *Capranica*'s von der Identität sämmtlicher Fettfarbstoffe mit guten Gründen zurückgewiesen hatte. Herr *Wälchli*, der mir in diesem Punkte ausdrücklich beistimmt, würde also besser überlegt haben, was er oder andere entgegnet hätten, wenn die isolirten Chromophane nicht auf das Verhalten zu J, HNO_3 und H_2SO_4 geprüft worden wären, oder wenn die Prüfung Differenzen ergeben hätte. Statt dessen sucht Herr *Wälchli* uns seine Meinung durch Exemplificirung auf die bekannte, dem Leime und den Albuminen trotz chemischer Verschiedenheit gemeinsame Alkalikupferreaction klar zu machen: im Anschlusse an die Jodreaction mag das Beispiel durchgehen, aber für den Farbenwandel unter Einwirkung von HNO_3 und H_2SO_4, vermuthe ich, waren bessere zur Hand.

Wir gehen über zur thatsächlichen Widerlegung der chemischen Einwände, deren sich auch das Utrechter Verdict über die Chromophane nicht begeben wollte.

a. Die Fettfarbstoffe werden durch Sieden mit alkoholischer Natronlauge nicht verändert.

Zu unserer Belehrung und Uebung wurde mit den leicht zugänglichen Pigmenten des Eigelbs, der corpora lutea und des Palmöls (von Elaeis guineensis) begonnen. Ob Verseifung das beste Mittel zur Isolirung der Pigmente sei, ist augenblicklich irrelevant: ich war früher darauf angewiesen, weil ich kein andres kannte und komme darauf zurück, weil die vorliegenden Einwendungen wol hauptsächlich gegen diesen Theil der Methode erhoben worden sind.

Aus den Hühnereidottern und den gelben Körpern (der Kuh) wurde das gefärbte Fett nach Entwässerung in Alkohol mit Aether gewonnen, während das Palmöl direkt verseift werden konnte. Die Verseifung geschah stets in einer zur Lösung etwas mehr als ausreichenden Menge siedenden absoluten Alkohols unter Zusatz nicht zu großen Ueberschusses concentrirtester Natronlauge. Darauf wurde der Alkohol durch Sieden auf offenem Feuer schnell[1]) verjagt, durch kochendes Wasser ersetzt und NaCl zugefügt, bis sich die Seifen körnig ausschieden. Nach dem Erkalten wurden die Seifen mit großen Mengen NaCl-Lösung von 30 pCt. gewaschen und meist erst getrocknet mit Aether extrahirt. Die Aetherlösung mit viel H_2O, später mit concentrirter Salzlösung auszuschütteln,

---

[1]) Dieser Umstand ist wichtig zur Vermeidung brauner Producte, die zwar nicht aus den Pigmenten, sondern aus andern, namentlich im Eidotter und in Netzhäuten enthaltenen Stoffen entstehen und schwer zu entfernen sind. Das Sieden und Verjagen des Alkohols geschieht auf einem Flachbrenner, über den ein großer fast bis auf den Tisch reichender Hut aus Drahtnetz gestülpt wird, der die Entzündung der Dämpfe verhindert, wie die *Davy*'sche Sicherheitslampe.

erwies sich zur Gewinnung möglichst seifenarmer Pigmente vortheilhaft.

Zur Vergleichung dienten einerseits ätherische, alkoholische, auch mit Chloroform oder Schwefelkohlenstoff hergestellte Lösungen der Pigmente, welche die Verseifung überstanden hatten, andrerseits die fetthaltigen aus dem Rohmateriale direkt mit den gleichen Lösungsmitteln erhaltenen Extrakte; doch werden sich die folgenden Mittheilungen auf die Aether- und CS_2-Lösungen beschränken, welche die weitesten Differenzen der Dispersion und der davon abhängigen Stellung der Absorptionsstreifen vorführen. Die Bestimmung geschah, indem man für jeden einzelnen Streifen die Spaltweite und Schichtendicke, wobei derselbe am deutlichsten erschien, ausprobirte, fast ohne Ausnahme bei direktem Sonnen- oder bestem Tageslichte, niemals bei Lampenlicht. Zuerst wurde das Maximum der Verdunklung, dann Anfang und Ende und die Art der Zu- und Abnahme der Beschattung notirt. Selbstverständlich sollen die Abbildungen nichts über den absoluten Werth der Absorption aussagen. Das Ende des Spectrums ist überall da notirt, wo bei grade noch deutlichen Streifen kein Licht mehr wahrgenommen wurde, ein Punkt, der, wie kaum zu sagen nöthig, nicht immer die jeweilige vollkommene Verdunklung bezeichnet, da über totale Absorption nicht ohne sorgfältigste Abblendung des ganzen übrigen Spectrums und nur unter Beachtung der Zustände des Auges entschieden wird.

Fig. 1 *a b*, 2, 3 *a b* zeigen die Spectra der ätherischen Lösungen des Luteïns, Elaeochrins und Lecitochrins, in *a* vor, in *b* nach der Verseifung. Sie stellen eine Reihe dar, worin die Absorption namentlich des ersten Bandes, beim Luteïn am weitesten zur rothen Seite reicht, die des Lecitochrins am wenigsten und eine Differenz von *a* zu *b*, welche die Streifen durch die Verseifung etwas nach der violetten Seite verschoben zeigt. Beim Palmöl wurde dasselbe gefunden, aber zu unbedeutend um sich

gut abbilden zu lassen. Die Verschiebung erklärt sich aus der Beimengung von Fett und anderen Stoffen, welche die Dispersion des Mediums erhöhen, denn die Spectra 1 *b* und 3 *b* waren leicht in die von *a* und *b* umzuwandeln durch Zusatz mäßiger Mengen farbloser Fette. Die Absorption dieser 3 Fettpigmente wird also durch die Verseifung garnicht verändert.

In Fig. 4, 5, 6, der Absorption durch CS_2-Lösungen bilden die Farbstoffe abermals eine Reihe, in welcher die Luteïnstreifen wieder links den Anfang machen, während zugleich alle Bänder stark nach links verschoben sind. Hier bewirkt Zusatz von Fett, weil es die Dispersion vermindert, umgekehrt Zurückgehen der Streifen zur violetten Seite und wenn die CS_2-Lösungen vor und nach dem Verseifen Differenzen ergeben, so zeigen sich diese umgekehrt, wie bei Fig. 1, 3 *a* und *b*. Dazu bedarf es übrigens nicht zu kleiner Fettmengen, ein Umstand, der für die direkte Untersuchung in Fetten enthaltener Pigmente allgemein von Vortheil ist, da dieselben in hinreichendem Ueberschusse von CS_2 aufgenommen, sogleich nahezu diejenige Absorption zeigen, welche ihnen im reinsten Zustande eigen ist.

Dem nicht immer wahrzunehmenden dritten vor *G* auftretenden Streifen des Luteïns und Lecitochrins wurde beim Elaeochrin nicht begegnet.

b. Die Fettfarbstoffe werden durch Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff nicht verändert.

Da Herrn *Wälchli*'s Beispiel lehrt, daß die von einigen thierischen Farbstoffen bekannte Zersetzlichkeit durch Alkohol u. dergl. ähnliche Veränderlichkeit von allen Thierstoffen, so weit sie farbig sind, voraussetzen ließ, blieb zu erweisen, daß unsere Pigmente sich beim Uebergange aus der natürlichen Ablagerung oder Auflösung in Fetten und verwandten Stoffen zu der in Alkohol oder Aether etc. so wenig verändern, wie während der an den begleitenden Fetten vorgenommenen Verseifung. Von

dem Elaeochrin, das freilich ein Pflanzenstoff ist, war dies ohne Umstände zu zeigen, indem man es mit so viel gebleichtem Knochen-, Mandel-, Oliven- oder Erdnußöl erwärmte, daß die Mischung bei Zimmertemperatur flüssig blieb und direkt im Hämoskop untersuchte. Fig. 7 ist das gefundene Spectrum: es zeigt die Streifen im Vergleiche zur ätherischen Lösung etwa um halb so viel zum Roth verschoben, als durch CS_2, entsprechend der mittleren Dispersion der Oele, wie sich unmittelbar aus der vollkommenen Uebereinstimmung dieses Spectrums mit dem einer Lösung des reinen, nach Verseifung krystallinisch erhaltenen Elaeochrins in einem der genannten Oele ergab.

Um die Pigmente des Eidotters und der corpora lutea in Oelen aufzulösen, ist es zweckmäßig das Material nach dem Verreiben mit Sand im Vacuum schnell zu trocknen, es 24 Stunden mit Oel gemengt zu lassen und abzufiltriren. Falls das Trocknen der genuinen Pigmente Anstoß erregt, bemerke ich, daß man ebenso brauchbare, obschon blassere Lösungen erzielt durch Zerreiben des frischen, feuchten Materials mit reichlichen Oelmengen und Filtriren durch gehörig gefettetes Papier. Wir haben auf diese Weise vom Luteïn und dem Lecitochrin die in Fig. 8 und 9 abgebildeten Spectra erhalten und zum Beweise, daß die nach Alkohol-Aetherbehandlung und mittelst Verseifung gewonnenen Pigmente mit den präexistenten identisch seien, nur die beiden isolirten Farbstoffe in reinen Oelen aufzulösen brauchen, um vollkommen congruente Sepectra zu erzielen. Es ist fast überflüssig zu sagen, daß es im Erfolge keinen Unterschied machte, wenn die gereinigten Körper zuvor einmal in CS_2, Benzol oder Chloroform aufgelöst waren.

c. Die Zapfenpigmente der Hühnerretina werden durch Alkohol und Aether nicht verändert.

Aufmerksamen Lesern der *Wälchli*'schen Arbeit wird nicht entgangen sein, daß der Verfasser sich gar nicht auf das in seinem

Sinne discontinuirliche Spectrum der alkoholischen, ätherischen und CS_2-Extracte der Vogelretina, in denen sämmtliche Farbstoffe aufgelöst sind, einläßt. Die 3 Hauptarten der Zapfenkugeln geben nach *Wälchli* continuirliche Spectra und ausdrücklich wird bemerkt, die rothen und orangen Kugeln könnten keine Mischungen des Rhodophans und Xanthophans enthalten, weil diese beide discontinuirliche Spectra gäben. Vollends kann nach Herrn *Wälchli* das Spectrum der alle 3 Pigmente vereinigenden Lösung nicht discontinuirlich sein, da ja auch das der gelbgrünen oder grünen Kugeln, die den dritten Farbstoff enthalten, von ihm continuirlich genannt wurde. Herr *Wälchli* muß also annehmen, daß die genuinen Farbstoffe schon durch die Behandlung der Retina mit Alkohol und Aether verändert werden und daß die Zersetzung, die er bei unserer Isolirungsweise der Cromophane annimmt, z. Th. vor der Verseifung Platz greife. Man versteht nicht, weshalb er dies nicht selber hervorhob, da er doch nicht ausschließlich meine, sondern erst recht die früheren Beobachtungen *Capranica*'s, der das Spectrum der gemischten Lösung zuerst beschrieb, zu beachten und seinen Lesern zu nennen hatte, als Resultate, die, mit ihm zu reden, den seinigen widersprachen.

Es ist leicht, sich von der Ungefährlichkeit der ersten Extractionsweise zu überzeugen, denn man kann die Hühnerretina besonders nach dem Trocknen ohne Alkohol oder Aether durch Zerreiben mit fetten Oelen so vollständig von den Zapfenpigmenten befreien, daß der Filterrückstand nach gehörigem Auslaugen mit Oel, an Alkohol, Aether u. dergl. keine Spur von Färbung mehr abgiebt. Zur Bereitung der Oellösung werden die aus den Augen soeben geschlachteter Hühner entnommenen Netzhäute, mit oder ohne Epithelbedeckung, wie man sie grade erhält, auf Glasplatten im Vacuum über H_2SO_4 schnell getrocknet, im Achatmörser mit Oel zerrieben und nach einigen Stunden filtrirt. Das völlig klar durchgehende Oel von prachtvoll rother bis oranger Farbe gab bei

größter Sättigung die Spectra Fig. 10, in dickster Schicht (100 mm) vielleicht etwas Absorption im Roth von *C* bis vor *A* reichend (die Linie *a* blieb jedoch deutlich erkennbar), dann Verdunklung bald hinter *D* beginnend, deren Maximum etwas vor $^1/_2$ *D—E* fiel. Beim Verdünnen der Schicht wurde allmählich ein dunkles, sich bis zu einer gewissen Grenze immer schärfer säumendes Band sichtbar, mit dem Maximum fast unmittelbar vor *F*, weiterhin ein zweites weniger deutliches schmäleres, etwa in der Mitte zwischen *F* und *G*, während sich das Spectrum bis nahe hinter *G* aufhellte. Vergleicht man hiermit die Spectra der alkoholischen oder ätherischen aus ebenso getrockneten oder feucht dem Auge entnommenen Netzhäuten hergestellten Lösung, so begegnet man nahezu denselben Bildern, mit dem einzigen Unterschiede, daß die gesammte Absorption erheblich weiter gegen das brechbarere Ende gerückt auftritt, am meisten bei der ätherischen Lösung, wenn sie verdünnt ist (vgl. Fig. 11 und 12). Alles dies ist wieder die Folge der veränderten Dispersion des Mediums, worin die Pigmente gelöst sind; nimmt man den Verdampfungsrückstand des Alkohols oder Aethers in Oel auf, so erhält man genau das Spectrum des direkten Oelauszuges der Retina wieder, d. h. die Absorption ist nach dem Roth hin um dieselbe Strecke verschoben.

Haben wir es hier zwar mit der Mischung von 3 Farbstoffen zu thun, so beweisen die Beobachtungen doch, daß sich in dieser Mischung durch Behandlung mit Alkohol und Aether nichts ändert, mindestens nicht, nachdem sie einmal durch indifferente Oele hergestellt worden ist; daß andrerseits das Verhalten dieser Mischungen ganz abhängig ist von den in der Retina präexistirenden und überwiegenden Pigmenten, geht aus dem Spectrum von Extracten hervor, die in gleicher Weise, wie aus der Netzhaut des Huhns, aus der Taubenretina zu gewinnen sind, wo die rothen Kugeln bekanntlich in verhältnißmäßig viel größerer Menge vor-

kommen. Fig. 13 zeigt den breiteren diffuseren Absorptionsstreifen bei *F*, mit dem hinter *F* gelegenen Maximum, der sogleich an das Rhodophan erinnert; auch hier ist die Aetherlösung (vgl. Fig. 14), wie zu erwarten, durch die Verschiebung der Absorption nach Rechts charakterisirt.

d. Die Zapfenpigmente werden durch Auflösen in fetten Oelen nicht verändert.

Um dem Einwande vorzubeugen, daß die zur Extraction gewählten Oele, welche schwerlich für identisch mit den Fetten und sonstigen ungefärbten Bestandtheilen der Zapfenkugeln zu erachten sind, schon Zersetzung oder wesentliche chemische Veränderungen der genuinen Pigmente bewirkten, habe ich versucht, die Pigmentmischung ohne alle Zusätze zu erzeugen und spectroskopisch zu prüfen. Mit der frischen Hühnerretina und der rothen Stelle der Taubennetzhaut wollte dies nicht gelingen, weder wenn man sie zwischen Spalt und Lichtquelle, oder zwischen Auge und Ocular, noch wenn man sie in ein objectives Spectrum brachte; die Pigmente sind dazu nicht homogen genug ausgebreitet, oder die Membran ist selbst zu wenig homogen. Dagegen gelang es einigermaßen mit auffallendem Lichte, durch Antrocknen frisch ausgebreiteter Netzhäute auf einer Gyps- oder Porzellanplatte. Wie intensiv und brillant die Farbe der im feuchten Zustande mikroskopisch sehr unansehnlichen Hühnerretina durch Eintrocknen wird, dürfte bekannt sein, und eine 4 Ctm. lange, 3 Ctm. breite Platte ganz davon überzogen, gestattete in der That unter günstigen Bedingungen einige wichtige Beobachtungen. Man kann ein kleines lichtstarkes objectives Spectrum darauf projiciren, oder die Platte reflectirend als Lichtquelle vor den Spalt bringen, sowohl direkt, wie mit Einschaltung einer Sammellinse, wozu ganz vortheilhaft ein Cylinder mit Wasser dient, während mit der Sonne durch den Heliostaten im Dunkelzimmer beleuchtet wird. Wo das Sonnenspectrum auf die Platte fällt, zeigen sich dessen Roth und

Gelb so gut wie unverändert, die übrigen Regionen verdunkelt, am stärksten im Gelbgrün und in der Gegend von *F*; doch kann man bei dieser Beobachtungsart starken Täuschungen unterliegen durch Unebenheiten der Oberfläche, welche an ganz anderen Stellen unter bestimmten Winkeln betrachtet, als dunkle Bänder erscheinen. Besser pflegt die Andeutung eines Streifens bei *F* und diffuse Beschattung von diesem Punkte bis *D* unter gleichzeitigem deutlichen Aufleuchten des Blau hinter dem Streifen auszufallen bei der anderen Methode, wo man das Bild im Fernrohre des Spectralapparates sieht.

Eine dritte Art die Farbstoffe, wenn nicht in den natürlichen Medien, so doch in solchen Stoffen zusammenzutreiben, die sämmtlich der Retina angehören, besteht in Zerreiben getrockneter Retinae mit wenig Wasser oder verdünntem Glycerin, oder darin, daß man mit neutralem Trypsin verdaute Netzhäute unter dem Deckglase quetscht. Die ursprünglichen Zapfenkugeln werden so fast vollständig zerstört und treten zu größeren Tropfen von ziemlich gleichmäßiger Orangefärbung zusammen, während sich ein Theil der Farbstoffe diffus durch die Gewebsreste verbreitet und diese durchweg hellorange färbt. Allen Farbstoff von Fetttropfen beträchtlicher Größe aufgenommen, findet man nach Behandlung der Präparate mit entfärbter Galle oder wenn man frische Netzhäute in Galle zergehen läßt und den schleimigen Brei nach dem Eintrocknen auf dem Objectträger unter gehörigem Zerrühren wieder in Wasser aufweicht. Letzteres Verfahren liefert besonders homogene, am wenigsten von Krystallen und Gewebsschollen durchsetzte Farbetropfen, jedes aber Objecte von hinreichender Größe um mit dem für kleinere Bilder sonst im Stiche lassenden *Browning*'schen Spectralapparate untersucht werden zu können. Je nach der Größe und Dicke geben die farbigen Tropfen und Schlieren gestreifte oder ungestreifte Spectra und oft gelang es durch Druck auf das Deckglas die ersteren unter dem Auge

entstehen zu lassen. Die dunkelsten Bilder zeigten Absorption in allen Farben, sehr deutlich im Roth, Orange und Gelb, anscheinend totale Absorption dann etwa in der Mitte zwischen *D* und *E* beginnend; doch schienen nur trübe, nicht hinlänglich homogene Tropfen oder Schollen dieses Spectrum zu geben. Die Mehrzahl zeigte im Roth nur höchst zweifelhafte Absorption, bei den dunkleren etwas hinter *D* beginnend, bei den helleren auf *E* fallend, von wo aus die Verdunklung allmählich zunahm um kurz vor *F* ein Maximum zu erreichen, hinter welchem wieder eine längere Strecke des Blau heller hervortrat. Nach mäßigem Drucke wurde zwischen *b* und *F*, letzterer Linie am nächsten, ein deutlicher Absorptionsstreifen sichtbar, zu welchem oft ein zweiter weniger scharfer im Blau, ungefähr in der Mitte zwischen *F* und *G* auftrat. Ich will auf diese mit mangelhaften Instrumenten angestellten Beobachtungen keinen allzugroßen Werth legen: eins stellen sie aber außer Zweifel, daß die Zapfenpigmente ohne Zusatz neuer Lösungsmittel zu einer Masse vereinigt werden können, deren Absorption die größte Aehnlichkeit besitzt mit der durch Auflösen der Pigmente in fetten Oelen erzielten. Giebt es eine Differenz, so liegt diese in einer Verschiebung des deutlicheren Streifens zur weniger brechbaren Seite.

e. Die Zapfenpräparate werden durch Sieden mit alkoholischer Natronlauge nicht verändert.

Nachdem uns das Vorstehende berechtigt hat die Farbstoffe der Zapfenkugeln für unveränderlich durch Auflösen in Oelen, Alkohol und Aether zu erklären, bleibt nachzuweisen, daß sie auch während einer Verseifung nicht zersetzt werden. Zu dem Ende ist nur die nach gründlichem Sieden gebildete alkoholische Seifenlösung mit so viel Alkohol aufzufüllen, daß sie nach dem Abkühlen noch einige Zeit klar und flüssig bleibt. Oder man versetzt die etwas abgedampfte Lösung mit Aether und fügt zur Wiederauflösung der sich gewöhnlich ausscheidenden, von Rhodo-

phan gefärbten Seifen Chloroform hinzu. Je nach dem Lösungsmittel und der Concentration, wobei auch die Seifen und andere aus der Retina mit den Pigmenten aufgenommenen Stoffe in Rechnung zu ziehen sind, erzielt man Spectra, welche z. B. mit denen direkter alkoholischer, mit Chloroform versetzter Retinaextrakte nahezu congruent sind, wie Fig. 15 und 16 es zeigen; und wenn man die gesammte durch Abdampfen zu gewinnende Seife in Oel löst, so erhält man fast genau das Spectrum der aus getrockneten Netzhäuten mit Oel bereiteten Extrakte, charakterisirt durch dieselben, nur um ein geringes weniger zum Roth verschobene Streifen (vgl. Fig. 10 und 17). Da die Auflösung der Seifen in Oelen wegen des langsamen Filtrirens umständlich war und es einfacher schien, sie in Lösung unter reichlicherem Zusatz von Chloroform mit dem Oel zu mischen, worauf die flüchtigen Antheile der Mischung einfach durch Abdampfen zu entfernen blieben, fand ich zufällig, daß die Oele den letzteren sämmtliche Pigmente durch bloßes Schütteln vollständig entziehen, so daß man sie im Scheidetrichter von einer gänzlich entfärbten Flüssigkeit zu trennen vermag. Das gefärbte Oel brauchte nur kurz auf dem Wasserbade erwärmt zu werden, bis der Geruch nach den ursprünglichen Lösungsmitteln verschwunden war.

Daß die letztgenannten Spectra untereinander vollkommen identisch seien, wird man wegen den Verschiedenheiten der Lösungsmittel nicht erwarten; es ist aber eine Kleinigkeit die Congruenz herzustellen, indem man die direkt aus der Retina erhaltenen ätherischen Extrakte mit Alkohol und Chloroform vermischt, wie die nach dem Verseifen erhaltenen Lösungen es unvermeidlich sind. Dagegen wollte es nicht glücken, die Lösung der Seifen in Oel dem direkten Oelextrakte der Netzhaut vollkommen gleich zu machen; die kleine Differenz beruht vermuthlich auf der Anwesenheit von stark dispergirenden farblosen Bestandtheilen der Retina, welche durch Alkalien zersetzt werden.

f. Die Zapfenpigmente werden durch keine der bisher angewendeten Isolirungsmethoden zersetzt.

Wissen wir jetzt, daß weder Alkohol und Aether, noch Sieden mit alkoholischer Natronlauge die Farbstoffe zersetzen und scheinen die gegen uns erhobenen Einwendungen damit widerlegt, so muß doch gerechter Weise hervorgehoben werden, daß Herr *Wälchli* unter den Gründen gegen die Präexistenz der Chromophane keine ausdrückliche Wahl getroffen hat, sondern das ganze Verfahren oder sämmtliche zur Isolirung verwendeten Mittel, als ebenso viele Gegengründe oder uns zur Last zu legende Fehler aufzählte. Ein so umsichtiger Autor wird beanspruchen, daß man ihn nicht für widerlegt halte, nachdem sich eine oder zwei seiner Einwendungen als unberechtigt erwiesen, sondern verlangen, daß man mit ihm Punkt für Punkt weitergehe. Es soll hier, soweit es die Rücksicht auf den Leser gestattet, geschehen.

Aus den die Chromophane einschließenden Seifen hatten wir das Chlorophan durch Petroläther, das Xanthophan durch Aether, das Rhodophan durch Benzol oder Terpentinöl isolirt, nach der ersten unvollkommenen Trennung auch CS_2 zur Entfernung des dritten Körpers aus den beiden andern verwendet. Indem ich dieses Verfahren zugleich als gute Gelegenheit, mir unsere älteren Resultate auf's Neue vor Augen zu führen, wiederholte, hatte ich das Vergnügen Früheres zu controliren und zu bestätigen und das Gewicht unserer neueren Beobachtungen in der Präexistenzfrage besonders klar zu stellen. Ich habe die Untersuchung in der früher aus Materialgeiz nicht vollkommen durchgeführten Weise beendet, daß ich die aus einer Darstellung gewonnene ganze Menge der Einzelfarbstoffe wieder zu einer Lösung vereinigte und aus deren Verhalten rückwärts die Identität unserer Educte mit den Componenten des ursprünglichen Materials, woraus jene abgeschieden waren, erwies. Hierzu war nur eine das Rhodophan betreffende Schwierigkeit zu überwinden,

da dasselbe von Benzol zu schwer gelöst wurde. Ich nahm den einmal mit Benzol extrahirten noch rosenroth gefärbten Seifenrest in einer heißen Mischung von Alkohol und Chloroform vollkommen auf und vereinigte dieselbe mit dem Verdunstungsrückstande der Benzollösung, ferner mit den Abdampfresten des Petroläthers und des Aethers, die das ganze Chlorophan und Xanthophan enthielten, nachdem beide in einer kleinen Menge Chloroform wieder aufgelöst waren. So hatte ich wieder eine mit den Seifen vermischte Lösung der 3 Chromophane, welche die Farbstoffe im gleichen Verhältnisse enthielt, wie die Retina, von welchen ich ausgegangen war. Die Flüssigkeit gab genau dasselbe Spectrum, wie die erste aus den Netzhäuten bereitete alkoholische, die ich für diesen Vergleich zuvor mit Chloroform gemischt und geprüft hatte, ein Spectrum, das natürlich auch mit dem der zweiten gleich nach dem Verseifen erhaltenen und vor Abscheidung der Einzelfarbstoffe ebenfalls untersuchten Gesammtlösung übereinstimmte. Endlich brauchte ich die künstliche Mischung nur mit Oel gründlich auszuschütteln um alles Färbende wieder in Fetten gelöst zu gewinnen und im wesentlichen das Spectrum zu erhalten, das direkte Oelextrakte getrockneter Retinae liefern, ausgezeichnet durch die mehrerwähnte Verschiebung der Streifen nach links.

Ich denke, man wird diesem experimentellen Vorgehen mehr Sicherheit beimessen, als Herrn *Wälchli*'s noch so sicher vorgebrachten Behauptungen und Einwendungen, die ohne Ausnahme als unzutreffend zurückgewiesen werden konnten.

2. Widerlegung der Lehre von der Identität der Fettpigmente.

In seiner „physiologischen Chemie“ sagt *F. Hoppe-Seyler* (S. 697) von den Chromophanen: „da ihre Spectralabsorptionen nicht einmal scharf unterschieden sind, ist auch ihre Farbe kein

scharfes Unterscheidungsmerkmal", während er Herrn *Capranica* zugesteht, Uebereinstimmung der Zapfenfarbstoffe mit dem Luteïn des Eidotters gegen Licht und Reagentien gefunden zu haben. Beides ist gänzlich ungerechtfertigt, denn 1. ist, wie jedermann aus unserer früheren und jetzigen Beschreibung sieht, das Chlorophan von zwei andern Chromophanen scharf unterschieden durch den Besitz von zwei Absorptionsstreifen statt eines, das Xanthophan scharf unterschieden durch einen schmalen scharf begrenzten und anders gelegenen Streifen von dem Rhodophan, das einen wenigstens 3mal breiteren diffus begrenzten Schatten giebt; und 2. wurde von uns gegen *Capranica* gezeigt, daß die Absorption (doch wol ein Verhalten gegen Licht?) der gemischten Chromophane eine total andere ist, als die des Luteïns und des Eigelbs und daß Behandlungen (bei denen doch wol das Verhalten gegen Reagentien in Frage kommt), welche aus diesem Materiale nur je ein farbiges Product zum Vorschein bringen, aus der Vogelretina mindestens drei zu trennen gestatten.

Man sieht, die Chromophane hatten das Schicksal von den Einen für zu scharf unterschieden, von den Andern für nicht unterscheidbar gehalten zu werden; vielleicht werden sich ihre Gegner mit Hülfe des nicht ungewöhnlichen Mittels, das Object einmal anzusehen, vertragen lernen!

Indem ich mich weiterer Beurtheilung des ungetreuen Berichtens und dreisten Absprechens, das sich Herr *Hoppe-Seyler* hier, wie so oft unter allgemeiner Mißbilligung gestattete, enthalte, erwächst mir die Verpflichtung auf die Arbeit *Capranica*'s die ich früher in bester Absicht kritisch so wenig wie möglich berücksichtigte, jetzt gründlicher Prüfung zu unterziehen. Daß jemand mit gesunden Sinnen nur auf den Gedanken verfalle, einen Farbstoff als Ursache derart verschiedener Absorptionsfarben anzusehen, wie sie die Zapfenkugeln darbieten, müßte für ganz unmöglich gehalten werden, wenn uns nicht der vorliegende Fall

ein neues Beispiel jener gelehrten Befangenheit gegeben hätte, deren Verbreitung durch die Geschichte der Farbstoffe belegt wird. Soll etwa die 20jährige Geschichte der Irrthümer über das Muskelhämoglobin, die man sich nach dem ersten glücklichen Griffe durch Herrn *Kölliker*'s common sens so leicht hätte ersparen können, wiederholt werden? oder die des Blutfarbstoffs, an Stelle dessen der Wissenschaft ein halbes Jahrhundert Derivate geboten wurden, denen ein Kind ansehen konnte, daß sie zu Blut gemischt Schmutz geben würden, aber keine Steigerung der Blutfarbe? Es wäre nöthig, wenn man sieht, welche Aufmunterung Herrn *Capranica* zu Theil ward, von dem es doch fraglich bleibt, ob er den Rückzug antreten werde, welchen ihm eine neuere Behauptung, das Lutein habe sich als ein Gemenge erwiesen, wohlwollend eröffnete.

Herr *Capranica* hatte die Einheit der Zapfenfarbstoffe schon vor seiner Untersuchung errathen, geleitet von der Phantasie, im Sehpurpur „verfeinertes Lutein[1])“ zu erblicken: ein feinerer

[1]) Wiederholt habe ich den Sehpurpur auf etwaige Beziehungen und Aehnlichkeiten mit den Fettpigmenten untersucht, ohne thatsächliche Anhaltspunkte dafür finden zu können. Neuerdings in größerer Menge isolirte und getrocknete Froschretinae gaben mit Oel zerrieben nach tagelangem Stehen völlig farblose Filtrate, während der Purpur aus dem Filterrückstande nach gründlichem Auswaschen mit reinem Aether durch Galle extrahirbar blieb. Nach der Aetherextraktion stellten die Retinae ein graurosafarbenes lockeres Pulver dar, welchem Galle den Purpur nicht schlechter entzog, als frischen Membranen. Das Verfahren hat den Vortheil erheblich reinere, stets klare und weniger zur Fäulniß neigende Purpurlösungen zu liefern, als das gewöhnliche. Es erfordert reinen Aether (spec. Gew. 0,720), den ich zuverlässig nur aus der *Kahlbaum*'schen Fabrik in Berlin fand. Trockene Retinae in diesem Aether aufbewahrt, sieht man nach Wochen im Purpurgehalte nicht verändert, feuchte mindestens 8 Tage kenntlich gefärbt bleiben. Es stimmt dies mit meinen ersten Angaben über die Wirkung des Aethers überein, nicht mit meinen späteren (Handbuch der Physiol. herausg. von *Hermann* S. 283), die jedoch für die meisten als rein verkauften Aethersorten gültig bleiben.

Molecularzustand sollte die „sostanza antichissima“ des Eies zu allem wandeln, dessen das Auge bedarf; warum also sollte Herr *Capranica* nicht die Eierfarbe in „eine schöne sehrothe“ wandeln und die Spectra der Auszüge von Dottern in die von Extrakten aus Hühneraugen? Wir werden sehen wie er es anfing!

Um sich mit Herrn *Talma*'s wohl empfohlenen Angaben in Einklang zu setzen, berichtet Herr *Capranica*, ein bei 26° C. bereitetes und warm erhaltenes Extrakt von 20 Hühnernetzhäuten in 20 CC. Alkohol gelöst und auf die Hälfte concentrirt, absorbire in Schichten von 50 mm alles Licht vom violetten Ende bis *D*. Ich habe 25—30 ganze Netzhäute größter Hühner in derselben Weise vollkommen extrahirt und von einer ebenso dicken Schicht die grade merkbare Absorption kaum $^2/_3$ der Strecke von *E* bis *D* erreichen sehen, während das Maximum in das erste $^1/_4$ vor *E* fiel. Factisch sind also diese Lösungen noch zu verdünnt, um die erwünschte Uebereinstimmung mit *Talma*'s Angaben zu erzielen oder um mit dem ersten Maximum der rothen Kugeln wetteifern zu können.

Nun kommen die gestreiften Spectra: Herr *Capranica* bildet sie ab. Ich mußte mir erlauben sie zu copiren um meine Befunde[1]) in punktirten Linien daraufzusetzen (vgl. Fig. 18 *a—f*) und ich bitte zur Controle dessen, was *Copie* ist, Herrn *Capranica*'s Original (Taf. VII l. c.) daneben zu halten. Zur Orientirung empfiehlt es sich eine Senkrechte bei 16 der Scala l. c. zu ziehen, welche auf 17,7 der meinigen fällt. Ohne dem Urtheile Anderer über die Richtigkeit unserer Curven vorgreifen zu wollen, habe ich doch darüber zu reden, daß Herr *Capranica*,

---

Gegen eine Aehnlichkeit des Sehpurpurs bezüglich der Löslichkeit mit den Fettpigmenten und Chromophanen spricht auch seine Unlöslichkeit, selbst in Gegenwart von Fetten, in Benzol und Petroläther, während die Farbe erhalten bleibt.

[1]) An Lösungen, welche genau nach Herrn *Capranica*'s Vorschriften hergestellt waren.

der erst ganz richtig nach *Lieben* und *Piccolo* erzählt, das Luteïn nehme in CS_2 eine röthere Farbe an und der die jedesmalige beträchtliche Verschiebung der Streifen zum Roth in diesen Lösungen auffand, zum Beweise der Identität (des Luteïns, Lecitochrins, Lipochrins und der Chromophanmischung) gleiche Spectra des Farbstoffs der corpora lutea und des Dotterpigments abbildet (Fig. 18 *e* und *f*), von denen das erstere laut eigener Angabe mit der CS_2-Lösung, das andere mit der alkoholischen erzeugt war. Wären nicht beide falsch, so hätte Herr *Capranica* gar keinen besseren Beweis für die Verschiedenheit des Luteïns und Lecitrochrins bringen können, als mit dieser Congruenz. Ebenso macht es der Autor mit den Chromophanen und dem gelben Pigmente der Oelkugeln aus dem Retinaepithel des Frosches (Fig. 18 *b*[1] und *c*), wo zwar die Streifen im Blau um ihre halbe Breite gegeneinander verschoben, die im Grün dagegen vollkommen congruent sind; und doch waren die Chromophane in CS_2, das Froschpräparat in Alkohol gelöst. Nicht besser hätte Herr *Capranica* das Gegentheil belegen können zu seiner Behauptung, daß 3 Chromophane mit dem einen Lipochrin identisch seien. Aber auch hier sind noch zu seinem Vortheile beide Bilder falsch. So bleibt auf der Tafel nur ein Paar bestehen, das dem eigenen Autor keine Opposition machte und wo ich mich zu meiner Freude theilweise wenigstens in Uebereinstimmung mit ihm befinde, wie aus Fig. 18 *c* und *d* hervorgeht. Herr *Capranica* hat hier, was er überall hätte thun sollen, wirklich Farbstoffe verschiedenen Herkommens in gleichen Lösungsmitteln verglichen und das richtige getroffen, indem er die große Aehnlichkeit des Lipochrins mit dem Luteïn erkannte. Wo außerdem für seine Zeichnungen gleiche Lösungsmittel angegeben sind (Fig. 18 *a*, *c*, *f* und *b*, *e*) findet man dagegen beachtenswerthe Differenzen im

---

[1]) Nach der punktirten Curve von Fig. 18 *b* ist auch unsere ältere Fig. 15 Taf. 5 Bd. I dieser Unters. zu berichtigen.

Widerspruche zur behaupteten Identität. Endlich sind alle Abbildungen mit dem Fehler behaftet, Absorption im Roth darzustellen, die nicht vorhanden war, augenscheinlich zur Uebereinstimmung mit *Talma*'s in diesem Punkte nicht einmal bestimmten Aeußerungen. Da ich diese Absorption schon in den concentrirten Chromophanlösungen mindestens zweifelhaft finde, kann ich nicht zugeben, daß wirklich Gesehenes von Herrn *Capranica* abgebildet wurde, als er den fraglichen Schatten überall beibehielt, wo nicht nur die Concentration 4 mal geringer, sondern auch die durchstrahlte Schicht mindestens 5 mal dünner war.

Den optischen Differenzen gegenüber deutet die Uebereinstimmung der Fettpigmente in einigen chemischen Reactionen offenbar Verwandtschaft unter denselben an, die etwa nach Art einer homologen Reihe aufzufassen wäre. Die Dinge liegen hier umgekehrt, wie bei den Hämoglobinen z. B., wo uns die optische Analyse gegenüber der chemischen und krystallographischen im Stiche läßt und constante Absorption bei starken sonstigen Differenzen (auch der Löslichkeit) zeigt, was sich vermuthlich daraus erklärt, daß alle Hämoglobine als einziges gefärbtes Derivat das stets gleiche eisenhaltige Hämatin liefern, wonach sie sämmtlich als Verbindungen desselben Farbstoffes, und zwar des *Stoke*'schen reducirten Hämatins aufzufassen wären. Ein solches Beispiel, den thierischen Pigmenten entnommen, das außerdem trotz verschiedener chemischer Zusammensetzung Uebereinstimmung in zahlreichen chemischen Reactionen gewährt, meine ich, kann uns lehren, letztere nicht zu überschätzen und namentlich in den Fällen nicht, wo das feinste Mittel, das wir wahrscheinlich überhaupt zur Erkenntniß alles Körperlichen besitzen, das Licht, auffällige und wie es scheint graduelle, abgestufte Differenzen enthüllt.

Von Herrn *Maly*[1]) wurden kürzlich 2 Pigmente, ein rothes

---

[1]) Wiener Ac. Stzber. 12. Mai 1881.

und ein gelbes aus den Eiern von Maya Squinado getrennt und etwa in demselben noch mit andern Stoffen gemengten, amorphen Zustande erhalten, wie bis jetzt die meisten Fettfarbstoffe und Chromophane. Bedenkt man, in wie viel Millionen mal größeren Mengen die *Maly*'schen Farbstoffe zugänglich sind, als die aus Netzhäuten zu gewinnenden Kleinigkeiten, so ist dies für die Optochemie zwar wenig ermuthigend, jedoch kein Grund die auf die Chromophane gewendeten, nicht viel weniger erfolgreich gewesenen Bemühungen zu unterschätzen, um so weniger, als diese den Weg angezeigt hatten, das Vitellorubin vom Vitelloluteïn zu trennen, wie sie es gewesen sind, welche dem gesunden menschlichen Farbensinne wieder trauen lehren mußten. Ich kann es auch nicht für gerechtfertigt halten, die Sache nach diesen Befunden nun so zu wenden, als ob man unter dem, was bis jetzt Luteïn (*Holm* und *Städeler*) Hämoluteïn (Lieben und Piccolo) genannt wurde, im Einzelfalle mehr als einen Farbstoff verstanden habe, denn daß jene schönen orangefarbenen Krystalle aus den Corpora lutea das Vitellorubin nicht enthalten, lehren der Augenschein und das Spectrum, während der als charakteristisch für das Vitellorubin beschriebene diffuse Absorptionsschatten dasselbe dem Rhodophan ebenso nahe stellt, wie die für beide ziemlich gleich anschlagenden Isolationsmethoden es thun. Man kann sich nur wundern, daß Herr *Maly* dies nicht bemerkte. Ausgeschlossen ist natürlich nicht, daß noch in manchen Dottern neben dem Lecitochrin ähnliche Farbstoffe entdeckt werden und daß die zahlreichen gelben Farbstoffe thierischen und pflanzlichen Ursprunges, auf deren Aehnlichkeit mit dem Luteïn *Thudichum* zuerst aufmerksam machte, unter sich noch verschieden seien. Nur Herrn *Capranica* wird die behauptete Gemischtheit des Luteïns nicht als beneficium inventarii anzubieten sein, da er es war, der auf die Gleichheit von drei ganz verschiedenen Dingen drang, nachdem er sie selber erst vermengt hatte, und der uns zu-

muthete, drei unter sich an der Farbe unterscheidbare, von der Natur in der Retina z. Th. auf's sauberste getrennte Körper für einen schon bekannten, in der Farbe homogenen anzunehmen.

Augenscheinlich eröffnet Herrn *Maly*'s Mittheilung, daß das Vitellorubin und der gelbe Farbstoff aus den Eiern von Maja keinen Stickstoff enthalten, den Fettfarbstoffen neue Aussichten und da man darüber auch an einem Materiale entscheiden konnte, für dessen chemische Reinheit es sonst keine Garantie gab, falls nur nichts N-haltiges unter den Verunreinigungen vorkam, so habe ich nicht gesäumt, die Chromophane in dieser Beziehung zu prüfen. Was ich an Präparaten noch besaß, erwies sich freilich bei der *Dessaigne*'schen Probe sehr deutlich N-haltig. Ich führe es an, um zu zeigen, daß die Probe für die natürlich kleinen Quantitäten ausreichte. N-frei erhält man die Chromophane sowohl gemischt, wie ohne Schwierigkeit einzeln durch einige noch zu erwähnende Veränderungen der Darstellung, die im wesentlichen auf eine Reinigung der Fettpigmentmischung vor dem Verseifen und auf eine Extraktion des Seifenleims ohne Verlust an Farbstoffen durch Petroläther hinauskamen. Mit fast dem ganzen Material aus 100 Augen, das allerdings noch Seifen enthielt, vermochte ich bei der Probe keine grünliche oder blaue Färbung zu erkennen und wenn man einen Theil der Masse mit Natronkalk erhitzte, so entstanden keine deutlichere Lackmusbläuung oder Nebel mit HCl, als das beste käufliche Präparat beim Erhitzen für sich zu erzeugen pflegt. Es genügt dies zum Beweise, daß sich unter sämmtlichen Chromophanen kein N-haltiges findet. Den gleichen Nachweis vermochte ich an den drei einzelnen, jedenfalls weniger mit Seifen vermengten, also substanzreicheren Farbstoffen zu führen, die aus einer weit größeren Anzahl Augen gewonnen waren. Außerdem habe ich das Luteïn (aus dem corp. lut.) und das Lecitochrin (des Hühnerdotters) geprüft, beide in ähnlicher Weise gereinigt, wie die Zapfenpigmente

und z. Th. krystallinisch gewonnen. Der am schwersten zu reinigende Dotterfarbstoff erwies sich noch sehr deutlich N-haltig, weniger das Luteïn, wo die Reaction so schwach ausfiel, daß man es mit großer Wahrscheinlichkeit für N-frei halten darf. Das Elaeochrin war sehr leicht ganz von Seifen getrennt und N-frei zu gewinnen.

Indem sich von einer ganzen Reihe, die Fette und ähnliche Mischungen im natürlichen Zustande färbender Stoffe herausstellt, da sie N-freie Verbindungen sind, gewinnt namentlich das oft und genau untersuchte, augenscheinlich in die Reihe unserer Pigmente gehörige Carotin aus den Wurzeln von Daucus Carota Interesse. Dasselbe ist von *Wackenroder*[1]), *Zeise*[2]) und *Husemann*[3]) untersucht und hat die Zusammensetzung $C_{18}H_{24}O$. Es zeigt unmittelbare Beziehung zum Hydrocarotin $C_{18}H_{30}O$, das dem Cholesterin nahe steht, und mit diesem schon verwechselt wurde, also auch zu einem Körper, dessen Verbreitung im Thierleibe, im Nervenmarke und im Sehepithel, sowie in natürlichen Fetten aller Art Beziehungen zu den Fettfarbstoffen ahnen läßt, während es zugleich nach Farbe, Lichtempfindlichkeit, Krystallform, Dichroïsmus, Löslichkeit und sämmtlichen chemischen Reactionen von dem Luteïn kaum unterschieden würde, für Herrn *Capranica* sicher damit identisch wäre. Die grünbläuliche Färbung mit HNO_3 und die tief blaue mit H_2SO_4 wurde am Carotin schon von *Husemann* beobachtet und ich sehe, daß es auch mit Jod-Jodkalium blaugrün wird. Größere reine Krystalle zeigen die Reaction freilich kaum, höchstens wo die Jodlösung darauf eingetrocknet und in feine Risse eingedrungen ist; scheidet sich das Carotin dagegen in sehr kleinen kupferfarbenen Krystallen oder in feinen gelben Kügelchen aus, so wird es durch Jod augenblicklich tief blaugrün.

---

[1]) Vgl. *A.* u. *Th. Husemann*, Die Pflanzenstoffe. S. 821.

[2]) Journ. f. pract. Chemie. XL. S. 297.

[3]) Ann. d. Chem. u. Pharm. CXVII. S. 200.

Endlich erzeugen alle Carotinlösungen 2 Absorptionsstreifen im Grün und im Blau, die wie überall, um so weiter von der brechbareren Seite abrücken, je größer die Dispersion des Lösungsmittels ist, am weitesten mittelst der CS_2-Lösung. Fig. 19 stellt die Spectra der Auflösungen in Aether, Oel und CS_2 dar mit der gleichen Reihenfolge fortschreitender Verschiebung der Streifen zum Roth und man ersieht daraus, daß sämmtliche Bänder sich weiter vom Violett entfernen, als die aller andern Fettpigmente.

Die auch von *Husemann* mit einigen Verbesserungen befolgte Darstellung des Carotins nach *Zeise* ist etwas umständlich und kann, wo kleinere Quantitäten genügen, vereinfacht werden, indem man die zerriebenen Rüben mit starkem Alkohol versetzt, nach 24 St. abpreßt, mit Aether übergießt und diesen langsamer Verdunstung überläßt. Das Carotin scheidet sich dann in makroskopischen Krystallaggregaten ab, deren Individuen unter dem Mikroskope wie in's Riesige übersetzte Luteïnkrystalle aussehen. Es sind rhombische Wetzsteinformen, auch an dünneren Stellen röther, als das Luteïn. Auf dem Filter gesammelt, mit kaltem Alkohol gewaschen, wiederholt in wenig CS_2 gelöst, mit Alkohol daraus abgeschieden und gewaschen erhält man sie leicht so rein, daß Alkohol kaum mehr davon gefärbt wird. Die Lösungen in CS_2 oder Benzol hinterlassen nach allmählichem Verdunsten ausschließlich krystallinische Rückstände, während man vor vollkommener Reinigung gelbe, in Alkohol leichter lösliche Tröpfchen beigemengt findet. Es mag sein, daß diese amorphen Reste, wie *Husemann* will, einen andern gelben Farbstoff enthalten, sicher kann man aber auch aus den reinsten Carotinkrystallen durch rasches Verdunsten eines Tropfens concentrirter Lösung auf dem Objectträger ähnliche gelbe Kugeln bekommen, die nach abermaliger Auflösung und langsamer Verdunstung nur Krystalle geben, und alles Carotin wird in gelben Tröpfchen erhalten, wenn der reinen Lösung etwas Oel hinzugefügt wird. Ich lege Werth darauf, weil das Carotin in dieser

Gestalt am leichtesten blaugrün wird durch Jod. Die angetrockneten Tröpfchen sind im durchfallenden Lichte rein gelb, im auffallenden grünlich gelb.

Nach *Husemann* wären die älteren Angaben über die Krystallform des Carotins irrig: er fand sie nicht rhombisch sondern cubisch und erhielt mehrere Millimeter messende Würfel. Ich habe den Körper zwar auch in makroskopischen Krystallindividuen, obschon nicht in so großen erhalten, aber nur rhombische Formen beobachtet. Die Krystalle zeigten aus den verschiedensten Medien abgeschieden, auch aus Benzol, das *Husemann* vorschreibt, keine wesentlichen Unterschiede und sämmtlich so ausgeprägte Doppelbrechung und Pleochromasie, daß ihnen kaum ein Körper darin gleichzustellen ist. Im reinen Zustande hat das Carotin keine Neigung krumme Kanten oder Wetzsteinformen anzunehmen, sondern es bildet flache, schmale, scharf ausgeprägte, lange rhombische Tafeln, die zuweilen so dünn sind, daß sie wie Bänder umknicken, sich falten und einrollen und garnicht als Krystalle zu erkennen wären, wo man die Enden mit den scharfen und constanten Winkeln nicht sähe, oder wenn man nicht auch an den allerdünnsten das Aufleuchten zwischen gekreuzten Nicols überaus prächtig wahrnähme, sowie den starken Wechsel der Farbe über dem Polarisator, wo dieser allein verwendet und gedreht wird. Die beiden Farben sind je nach der Dicke: grünlichgelb bis hellgelb und bronze- oder kupferroth, letztere an den dünnsten Individuen noch sehr gesättigt, die erstere im gleichen Falle aber so blaß, daß ein großer Theil entsprechend orientirter Krystalle vollkommen aus dem mikroskopischen Sehfelde verschwindet. Es ist ein merkwürdiger Anblick, beim Drehen des Nicols im hellen Sehfelde allmählich große kupferrothe Krystalle auftauchen zu sehen, deren Anwesenheit man nicht ahnte, während andere gleichzeitig spurlos verschwinden. Außer diesen Formen treten kürzere, gedrungene mit grad abgestumpften Kanten, seltener

lange Prismen auf, je nach der Orientirung bronzebraun oder grünlichgelb. In Alkohol suspendirt reflectirten die vorwiegend flachen und dünnen Krystalle, nicht grünlich, wie *Husemann* es von den dickeren Formen beschrieb, sondern gelblich oder fast weiß, mit erstaunlichem Glanze. Dagegen zeigt das trockene, dem Zinnober sehr ähnliche Krystallpulver grüne Reflexe und nimmt gerieben grünen Metallglanz an. Mit HNO_3, die salpetrige Säure enthält, werden die Krystalle, wie bekannt, erst grünblau, dann gelb und farblos, mit concentrirter H_2SO_4 tiefblau. Diese allen Fettpigmenten (auch dem Crocin, nicht dem Curcumin) nebst der Jodfärbung eigenthümlichen Reactionen sind überall am besten in der Chloroformlösung anzustellen, wo sie allmählicher auftreten und länger halten. Bei der H_2SO_4 Probe darf jedoch kein Cholesterin zugegen sein, das unter gleichen Umständen, wie *Salkowski* bemerkte, gelbe, rothe und purpurne Lösung giebt; bei überwiegendem Pigmentgehalte erkennt man indeß das Blau heraus, z. B. vom Lecitochrin und Chlorophan, die ich bis jetzt nicht frei von Cholesterin erhielt.

Ueber die Zersetzlichkeit des Carotins giebt es seit lange zuverlässige und untereinander verträglichere Angaben, als man glaubte. Sowohl *Wackenroder* wie *Husemann* waren im Rechte, ersterer, indem er die schnelle Zersetzlichkeit in Fetten, letzterer, als er die Lichtempfindlichkeit hervorhob. Das reine Pigment vergeht im Dunkeln weder mit Wasser befeuchtet noch in Aether, Benzol oder Chloroform; die letztere Lösung besonders wird aber vom Lichte leicht entfärbt, schneller, als die irgend eines andern Fettpigments. Außerdem scheint Sauerstoff nothwendig. Enthalten die Lösungen zugleich Fette in größerer Menge, so tritt mehr oder minder rasch Entfärbung unter vollkommenstem Lichtabschlusse ein und eine gesättigte dunkelrothe Lösung reinen Carotins in Oel pflegt spätestens nach drei Tagen gänzlich entfärbt zu sein. Sehr erkennbar schreitet die Entfärbung von der Oberfläche

in die Tiefe, verläuft in flachen Schichten außerordentlich schnell und wird durch guten Verschluß nahezu verhindert. Es handelt sich vermuthlich auch in der Dunkelheit um eine Sauerstoffwirkung, begünstigt durch das Ranzigwerden der Fette.

In gleicher Vollständigkeit wie die Zersetzlichkeit des Carotins wurde die des Luteïns und die Bedeutung, welche dem Lichte dabei zukomme, vor vielen Jahren von *Lieben* und *G. Piccolo* erkannt[1]). Es wird dies zwar allgemein übersehen in Folge der Darstellung *Hoppe-Seyler*'s, die nur der Lichtempfindlichkeit des in Chloroform gelösten Luteïns und der ersten Bearbeitung des Gegenstandes garnicht gedenkt[2]), und ist jetzt ganz vergessen, seit Herr *Capranica* diese erste Entdeckung der Lichtempfindlichkeit eines thierischen Farbstoffs *Hoppe-Seyler* förmlich zugesprochen hat[3]); aber *Lieben* und *Piccolo* haben 1867 ganz richtig angeführt, das Luteïn sei im Lichte zersetzlich, jedoch auch im Dunkeln unter Mitwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs, was vollkommen richtig ist. Besonders interessirt ferner ihre Angabe über die außerordentliche Resistenz des Luteïns gegen siedendes Aetzkali, was auch ohne die von uns ausgeführte spectroskopische Untersuchung leicht zu constatiren ist. Langsam verdunstende Extrakte der corpora lutea scheiden einen Theil des Pigments immer krystallinisch ab und es ist an diesen Krystallen kein Unterschied wahrzunehmen gegen diejenigen, welche nach der Verseifung der begleitenden Fette erhalten werden. Die Formen sind bekanntlich rhombisch und wol ausnahmslos durch

---

[1]) Giornal. d. sc. nat. ed economiche. Palermo 1867 u. Zeitschrift f. Chemie von *Beilstein, Fittig* u. *Hübener*. S. 645. 1868.

[2]) Handbuch d. physiol. u. pathol. chem. Analyse. 1875. S. 218 u. 219.

[3]) *Capranica* l. c. S. 292 sagt: „Schon *Piccolo* und *Lieben* erwähnen, daß ihre Luteïnkrystalle sich an der Luft entfärbten: aber erst *Hoppe-Seyler* hat die wahre Ursache dieser Entfärbung, die Einwirkung des Lichtes, aufgedeckt."

krumme Kanten modificirt, worauf später auch *Holm* und *Städeler*[1]) zur Unterscheidung vom Bilirubin (Hämatoïdin) aufmerksam machten. Die Farbe ist heller, nicht so roth, wie die des Carotins und der Dichroismus im polarisirten Lichte weniger auffallend, theils weil die Individuen gewöhnlich dicker sind und weil die gelbe und orange Farbe nicht so gegensätzlich wirken wie die beiden Farben des Carotins.

Das Carotin soll durch Erhitzen mit Aetzkali die Fähigkeit wieder zu krystallisiren einbüßen. Ich finde es nicht, denn wenn man eine Probe reiner Krystalle durch Sieden mit Alkohol vollkommen löst, concentrirte Natronlauge zusetzt, länger siedet und den Alkohol verjagt, wird die Lösung plötzlich trübe und glitzernd von kleinen, zwar nicht schön ausgebildeten, meist zu Drusen vereinigten Krystallen, die nach Form und optischem Verhalten jedoch durchaus nichts anderes sind, als die anfänglichen. Es genügt sie nach vollkommenem Eintrocknen in CS_2 zu lösen und durch etwas Alkohol langsam abzuscheiden, um die schönen vorhin genauer beschriebenen Krystalle wieder zu erhalten[2]). Somit ist das Luteïn auch in diesem Punkte nicht vom Carotin verschieden und so lange wir nicht von ersterem und von allen übrigen Fettfarbstoffen die chemische Zusammensetzung kennen, sind es nur

---

[1]) Journ. f. pract. Chemie. Bd. 100. 1867. S. 142.

[2]) *Husemann*'s gegentheilige Angabe ist hier von Werth, da sie die an manchen Fettpigmenten vermißte Krystallisation aufklären könnte; die Angabe bezieht sich offenbar auf die Kalibehandlung unreinen, wol mit Fetten vermengt gewesenen Carotins. In der That ist es nicht leicht ein reines Präparat wiederzugewinnen, nachdem man es mit Fett gemischt der Behandlung unterworfen hat, denn der von den Seifen abgezogene Aether setzt das Pigment vorwiegend in gelben amorphen Rinden ab, aus welchen erst wiederholte Extraktion mit CS_2 u. s. w. das reinere, dann übrigens untadelhaft krystallisirende Carotin liefert; jedenfalls geht dabei viel amorphbleibendes Material verloren. Aehnlich pflegt es mit dem Luteïn zu gehen, von dessen reichlichen, in Fetten suspendirten Krystallen der größte Theil nach dem Verseifen gewöhnlich amorph wieder erhalten wird.

optische Differenzen, welche zu Unterscheidungen in der ganzen Gruppe nöthigen.

Diese Unterscheidung ist eine zwingende, denn man hat jetzt im Carotin, Luteïn und Elaeochrin rein und krystallinisch zu gewinnende Körper, welche in diesem Zustande schon ohne Weiteres verschieden erscheinen durch die Farbe, vollends bei genauerer Untersuchung der Krystalle unter Beachtung des Dichroïsmus und der Absorption. Wie die Spectra der Fettpigmente vom Carotin bis zum Chlorophan in gleichen Lösungsmitteln eine merkwürdige Reihe zur brechbareren Seite fortschreitender Absorptionsstreifen darbieten, deren Verschiebung vielleicht in derselben Weise durch die chemische Zusammensetzung der einzelnen Glieder bedingt wird, wie dies für die Linienspectra der Didymverbindungen nach *Bunsen*'s bekannten Arbeiten gilt, so bilden die am reinsten dargestellten Pigmente auch eine Reihe bezüglich der direkt wahrnehmbaren, dem Gelb zugehenden Farbe und eine Reihe in Hinsicht auf die Verwischung des Dichroïsmus. Das Elaeochrin schiebt sich in allen Hinsichten zwischen das Carotin und Luteïn: die Absorption reicht nicht so weit zum Roth, wie die des ersteren, dagegen weiter, als die des letzteren; die Farbe steht zwischen beiden; die Krystalle (ebenfalls rhombische, meist vollkommenere, nicht wetzsteinförmige) bilden sich leichter als die des Luteïns und der Dichroïsmus (hellorange und bronzeroth) ist auffälliger, als an jenem. Als viertes Glied schließt sich das Lecitochrin an, das ich wenigstens in mikroskopischen Präparaten nach dem Verseifen der Dotterfette, allerdings mit viel Cholesterin vermengt, endlich krystallinisch sah. Die Krystalle zeigten nur Wetzsteinformen oder rhombische Geschiebe von wesentlich hellerer, auch in dicken Schichten mehr gelber Farbe als die des Luteïns. Ueber die Doppelbrechung kann ich mich wegen der Auf- oder Einlagerung von Cholesterin nur unter Reserve äußern, eher über den Dichroïsmus, denn derselbe war sehr schwach, trotz der optisch günstig

wirksamen Verunreinigung, von gelb zu blaß orange wechselnd. Wie ähnlich das Lecitochrin (der Hühnerdotter[1])) dem Luteïn erschienen sein mag, so sind die Körper doch durch ganz bestimmte Differenzen geschieden und nirgends treten diese, wie ich vor längerer Zeit sagte, deutlicher hervor, als in den CS_2-Lösungen, wo der Einfluß der Verunreinigungen, die dem Lecitochrin allerdings am hartnäckigsten anhaften, am geringsten ist.

Die Art der Vertiefung und des Umschlagens der Färbung zum Roth, welche seit den alten Erfahrungen vom Carotin und nach denen *Lieben*'s und *Piccolo*'s (lange vor *Capranica*) am Luteïn als charakteristisch für den Uebergang in die CS_2-Lösung bekannt war, läßt ohne Weiteres die beiden Pigmente unterscheiden. Man braucht nur der Farbe nach gleich gesättigte Alkohollösungen, worunter die des Eiergelbs sogar die dunklere sein darf, gleichviel ob der gereinigten oder der fetthaltigen Pigmente mit CS_2 zu versetzen, oder diesen durch Verdrängung oder Verdunsten und neues Lösen an die Stelle des Alkohols treten zu lassen, um zu sehen, daß die Lösung des Dotterpigmentes trotz gleich erhaltener Concentration die hellere wird, und höchstens

---

[1]) Die Dotterfarbe unterliegt in der Thierreihe bekanntlich großen Schwankungen. Ohne dem Ausspruche, daß das Luteïn ein Gemenge sei, (was man höchstens gegen *Thudichum* sagen könnte) beizustimmen, neige ich sehr der Ansicht zu, daß viele Vogeldotter mehrere Pigmente enthalten. Sehr bekannt ist die Angabe *Chevreul*'s über einen rothen Farbstoff neben dem gelben im Hühnerdotter, eine so oft ohne Citat erwähnte Beobachtung, daß ich auch nicht mehr im Stande bin, das Original nachzuweisen, obwol ich dasselbe einstmals vor Augen hatte. Ich erinnere mich 1865 nach *Chevreul*'s Vorschrift durch Schütteln von Dottern guter Eier mit Wasser und Aether eine untere, sonst klare wässrige Schicht von schöner Rosenfarbe, ohne Aehnlichkeit mit Blutroth erhalten zu haben, deren Färbung beim Erwärmen schnell und vollkommen verschwand, während ein flockiges ganz farbloses Gerinnsel entstand. Seit mich der Sehpurpur wieder an die Erscheinung erinnerte, habe ich jene Behandlung der Dotter oft versucht, aber die Farbe bis heute nicht wieder zu sehen bekommen.

zum Orange, nicht zum Roth oder zum Scharlach neigt, wie die des Luteïns. Wer das kennt, kann von 2 Proben sofort deren Herkommen feststellen, und wird die Erklärung leicht in dem spectralen Verhalten finden, da außer der für das Auge wenig wirksamen Differenz der Verschiebung der Absorptionsstreifen ein sehr beträchtlicher Unterschied in der Durchlässigkeit für violettes Licht zu Gunsten des Luteïns in Betracht kommt.

Am wenigsten sicher ist zur Zeit die Unterscheidung des Lipochrins und einstweilen nur für das Froschfett möglich. Jedenfalls wechselt der Farbstoff des gemeinen Fettgewebes der Wirbelthiere erheblich, da außer tiefgelbem auch grünes Fett vorkommt und wahrscheinlich treten zeitweise bei derselben Species mehrere Fettpigmente, unter Umständen der Reihe angehörige, aus Pflanzennahrung aufgenommene auf, was für die Butter vielfach angenommen wird.

Mit dem Lecitochrin theilen das Chlorophan und Xanthophan die Eigenthümlichkeit in CS_2 gelöst viel Violett zu absorbiren und daher die Farbe durch den Wechsel des Lösungsmittels verhältnißmäßig wenig zu verändern, obschon Vertiefung und Zugehen zur orangen und rothen deutlich sind. Nehmen die gemischten Chromophane dagegen wol die auffälligste Scharlachnuance durch CS_2 an, so beruht dies nur auf der Gegenwart des Rhodophans, das ich jetzt auch in diesem Mittel auflösen und in eine prachtvoll violette Flüssigkeit verwandeln lernte, über welche noch berichtet wird. Das Chlorophan, obwol ein zweistreifiges Spectrum gebend, ist dennoch vom Lecitochrin sehr leicht zu unterscheiden, direkt durch die grünliche Nuance in allen seinen Lösungen, spectroskopisch durch die relative Schwäche des dem Roth zugewendeten ersten Streifens und durch die näher an *G* befindliche Lage des zweiten Streifens, worauf besonderes Gewicht zu legen ist, weil die Lage des ersten Streifens bei beiden Körpern so wenig verschieden ist, daß die kleine Differenz

auch von farblosen, auf die Dispersion wirkenden Verunreinigungen, von denen grade diese Präparate am schwersten zu befreien sind, herrühren könnte. Neuere Beobachtungen mit sehr gutem Sonnenlichte angestellt, zeigten auch beim Chlorophan einen dritten, kurz vor *G* auftauchenden Streifen, ähnlich dem von mehreren sorgfältigen Beobachtern längst bemerkten, von anderen mit Unrecht geleugneten dritten Streifen der Dotterpigmente und des Luteïns. Der Streif ist auch an der durch Extraktion trockener Hühnerretinae mit Chloroform erhaltenen gemischten Chromophanlösung zu sehen und rührt dort nur vom Chlorophan her.

Das Xanthophan und Rhodophan nehmen bezüglich der Absorption unter den Fettpigmenten eine besondere Stellung ein: sie geben nur je einen Streifen, letzteres sogar nur einen diffusen schlecht begrenzten, weit in's Gelbgrün reichenden Schatten und relativ geringe Absorption im Blau und Violett. Neuerdings bin ich vornehmlich bemüht gewesen, die Abwesenheit eines zweiten Streifens beim Xanthophan und die Anwesenheit zweier beim Chlorophan, worüber mir Zweifel aufstiegen, darzuthun. Es war dies trotz der beträchtlicheren Verunreinigung des gelbgrünen Farbstoffs, welche die Absorption von der brechbareren Seite abrücken konnte, leicht, weil der erste Streif, um den es sich nur handelte, durch die am meisten dispergirenden Mittel, namentlich durch CS_2 niemals so nahe an *b* zu bringen war, wie der des Xanthophans und weil alle Verunreinigungen des Chlorophans in die Xanthophanlösungen übertragen daran nichts wesentliches änderten. Um das Experiment ausführen, wurde eine an der Sonne gebleichte Quantität Chlorophanlösung in Chloroform zur Auflösung des Xanthophans benutzt, und der Verdampfungsrückstand der Lösung in Aether oder CS_2 aufgenommen. Das Chlorophanspectrum kann also seinen ersten Streifen nicht Resten von Xanthophan verdanken. Daß das Xanthophan nur e i n e n Streifen giebt, also ganz frei von Chlorophan zu erhalten ist, lehrt jedes seiner

Spectra, besonders der Aetherlösung, das vor *G* hell genug ist um über die Abwesenheit plötzlich steigender und wieder sinkender Absorption zwischen *F* und *G* urtheilen zu lassen; ebenso lehrt es die Auflösung des Körpers in CS_2, wenn man erwägt, daß ein etwa vorhandener Streif durch das Mittel wegen des Zurückens zum helleren Theile des Spectrums deutlicher werden müßte: man sieht auch in verdünnteren, genügend blaues Licht durchlassenden Schichten keine Andeutung. Wiederholt und unter starkem Verlust muß freilich, um dies zu erreichen, die das Xanthophan enthaltende Seife mit Petroläther ausgezogen werden; man hat aber dafür den Vortheil, ein Pigment zu gewinnen, das namentlich nach öfterem Lösen in CS_2 und in kaltem Alkohol als tief orangefarbener Firniß zurückbleibt, in welchem mikroskopisch garkeine farblosen Beimengungen zu erkennen sind. Es krystallinisch zu erhalten, wollte dennoch auf keine Weise gelingen, ebensowenig wie beim Rhodophan, das vielleicht noch reiner erhalten wird.

II. Neuere Mittel zur Untersuchung der Chromophane.

Vorwiegend in der Absicht die Spectra der einzelnen Chromophane in Lösungsmitteln zu untersuchen, welche den natürlichen, sie in der Retina einschließenden möglichst ähnlich wären, habe ich neue Wege zur Darstellung, Trennung und Reinigung der Pigmente gesucht. Wie schon einmal handelte es sich auch jetzt wieder mehr um einige glückliche Griffe, als um Methoden, die auf schärferen Unterschieden des chemischen Verhaltens beruhten, da sich unsere früher ausgesprochene Vermuthung nur bestätigte, daß die reineren Farbstoffe bezüglich der Löslichkeit in verschiedenen Medien garnicht in dem Grade voneinander abweichen, als man nach der Verwendbarkeit eben dieser Medien zu ihrer

Trennung vermuthen sollte. Zwei Unterschiede sind indess durchgreifend und mit Vortheil zu verwenden: die ausschließliche Löslichkeit des Chlorophans in Petroläther, in Gegenwart eines Ueberschusses von Alkali und die Unlöslichkeit des Rodophans in Alkohol, bei Abwesenheit von Säuren oder von Ammoniak.

1. Zurichtung des Materials.

Die Chromophane theilen mit den übrigen Fettpigmenten die Zersetzlichkeit in Gegenwart von Fetten durch Sauerstoff: wie ich jetzt weiß, ging uns früher zuweilen Material nur deshalb während des Ansammelns verloren, weil die Augen entweder nicht sogleich mit genügendem Alkohol übergossen oder nicht gehörig damit durchgeschüttelt waren. Die sauberste Verarbeitung besteht ohne Zweifel im Herausnehmen der Netzhäute unter Salzwasser und sofortigem Uebertragen der Membranen in absoluten Alkohol. Bei größeren Mengen zu zeitraubend habe ich das Verfahren nur für gewisse Zwecke verwendet. Die Chromophane lösen sich in diesem Falle auch ohne Erwärmen vollkommen in Alkohol (20 CC. auf 30 Netzhäute) binnen 24 St., ohne jedoch freier von Fetten und andern Verunreinigungen erhalten werden zu können. Im Vacuum rasch getrocknete Retinae geben mit eiskaltem Alkohol gehörig zerrieben ebenfalls alle Chromophane ab und die Lösung hinterläßt einen rothorangen, zuletzt völlig trocknenden Firniß, aus welchem Wasser beträchtliche Mengen farbloser, krystallisirender Stoffe auszieht. Ich habe versucht, das Farbige weiter mit Galle, Glycerin oder NH_3 zu extrahiren, sah aber nur schwer zu verarbeitende, trüb und farbig filtrirende Emulsionen entstehen, und kehrte deshalb zur Massenconservirung ganzer Augen zurück.

Sehr vereinfacht wird die Arbeit, indem man die Augen nur enucleïrt und im Alkohol mit der Scheere zerkleinert, ohne Rücksicht auf die Gewebe und den Inhalt der Bulbi, welche vielmehr

von Vortheil sind, indem sie den Uebergang der Farbstoffe in den Alkohol fast ganz verhindern. Die Pigmente der vielfach gelben und rothen Iris[1]) des Vogelauges kommen als ganz unlöslich in Alkohol und Aether nicht in Betracht.

2. Darstellung der Chromophane.

Der Augenbrei wird zum Sieden erhitzt, heiß filtrirt, mit heißem Alkohol ausgewaschen, nach dem Erkalten mit Aether extrahirt, so lange letzterer deutlichere Färbung annimmt. Nachdem der Aether verdunstet worden, wird eine über dem rothen Fette stehende, seifenartige, farblose Flüssigkeit abpipettirt, das Farbige mit kaltem Alkohol gründlich extrahirt. Man verliert hierbei wesentlich Chlorophan, das jedoch, obschon ziemlich unrein, zusammen mit dem im ersten Alkoholextrakt der Augen abgängig gewordenen für sich zu gewinnen ist. Hierauf wird zum Verseifen geschritten, der wässrige noch kräftig alkalische Seifenleim stark verdünnt und mit Petroläther ausgeschüttelt, welcher sich dabei gar nicht färbt und nur Cholesterin und andere farblose Substanzen aufnimmt. Reichliche Mengen weißer gequollener Seifen, welche die Grenze der Flüssigkeiten einnehmen, werden im Scheidetrichter zurückgelassen, der gefärbte Seifenleim erwärmt, bis der Geruch nach Petroläther verschwunden ist, dann siedend ohne Ueberschuß festen Chlornatriums ausgesalzen, nach dem Erkalten die körnigen Seifen mit NaCl von 30 pCt. gewaschen. Ich ziehe jetzt vor, das Auswaschen nicht bis zur völligen Entfernung des Alkalis zu treiben und die Seifen nicht ganz zu trocknen, sondern zwischen Papier auszupressen. Zieht man sie dann mit Petroläther aus, so nimmt derselbe anfänglich

---

[1]) Die farbigen Irides nach dem Kochen mit Wasser durch Trypsin verdaut, hinterlassen außer Fuscin nichts als sehr undurchsichtige, orangefarbene Körnchen, die Alkohol und Aether nicht färben, in HCl unlöslich sind, in Kalilauge verschwinden.

wenigstens nur Chlorophan auf, das durch bloßes Verdunsten zu gewinnen ist und, obwohl immer noch reichlich mit Cholesterin vereinigt, keinen Stickstoff enthält. Man kann es etwas reiner gewinnen durch Auflösen in kaltem Alkohol, der meist eine seifige farblose Masse hinterläßt. Wird die Petrolätherbehandlung zu lange fortgesetzt, so gehen auch etwas Xantho- und Rhodophan in Lösung, aber man hat den Vortheil, die Hauptmasse dieser Körper gleich frei von Chlorophan zurückzubehalten.

Der Seifenrückstand wird weiter mit Aether behandelt, so lange dieser sich färbt. Was zurückbleibt hat eine reine Rosenfarbe: es ist die Masse, aus welcher wir früher das Rhodophan mittelst Benzol oder Terpentinöl gewannen. Sie repräsentirt ungefähr die Hälfte dieses Farbstoffs, während die andere Hälfte mit dem Xanthophan in den Aether übergegangen ist. Der Aether wird verdunstet, der Rest mit kaltem Alkohol extrahirt, welcher alles Rhodophan zurückläßt und bei gehörigem Zerreiben alles Xanthophan aufnimmt.

Die andere Hälfte des Rhodophans gewinnt man am besten durch Sieden der rosenrothen schwerlöslichen Masse mit Alkohol und einigen Tropfen Phosphorsäure, rasches Filtriren ohne Abkühlung, Versetzen des rothen klaren Filtrats mit NH_3 bis zur deutlich alkalischen Reaction, Abfiltriren der massenhaft ausgeschiedenen Salze, rasches Verdampfen des rothen alkalischen Alkohols, Aufnehmen des Rückstandes in Aether. Ebenso wird die mit dem Xanthophan vereinigt gewesene Hälfte des Rhodophans in Aether gelöst, worauf man beide Aetherlösungen vereinigt und mit Alkohol bis zum Entstehen starker Trübung versetzt. Nach einigen Minuten ist das Pigment in tief rothen Flocken ausgefällt und kann von dem farblosen Alkoholäther getrennt mit Alkohol gewaschen werden.

Obgleich unsere früheren Versuche, die unreinen Chromophane mit $Ba(HO)_2$ zu verseifen, keinen günstigen Erfolg gehabt hatten,

habe ich das Verfahren kürzlich aus Anlaß der Angaben *Maly*'s, der damit beim Vitellorubin zum Ziele kam, in etwas veränderter Weise wieder aufgenommen. In der That kann man die Trennung des Rhodophans damit gut bewirken und ist diese Uebereinstimmung mit dem Vitellorubin gewiß zu beachten. Ich habe die völlig mit Salzwasser gewaschenen Seifen mit Alkohol und wenig Barytwasser zum Sieden erhitzt, den reichlichen Niederschlag mit heißem Alkohol gewaschen, so lange derselbe gelb gefärbt durchging, dann mit etwas Phosphorsäure (nicht mit H_2SO_4, die zu vermeiden ist) und Alkohol ausgekocht und aus der rothen sauren Lösung das Rhodophan mit NH_3 und in der schon erwähnten Weise weiter isolirt. In den ersten heißen Alkohol war kein Rhodophan übergegangen; dagegen enthielt derselbe alles Chlorophan und Xanthophan, ersteres aus dem Verdunstungsrückstande des nach Entfernung reichlicher farbloser Niederschläge beim Erkalten wieder filtrirten Alkohols, leicht mit Petroläther extrahirbar.

Die 3 Pigmente in dieser Weise dargestellt werden zweckmäßig jedes noch einmal in CS_2, der in der Regel etwas farbloses hinterläßt, und aus dem CS_2-Rückstande mit Alkohol aufgenommen, das Rhodophan mit Aether gelöst. Die Conservirung geschieht am besten im trockenen Zustande. So weit gereinigt, sind die Farbstoffe sämmtlich löslich in: Aether, Petroläther, Chloroform, CS_2 und in fetten Oelen, sowie in noch manchen andern Mitteln, auch in Alkohol, mit Ausnahme des Rodophans, das sich aber in Säuren oder NH_3 enthaltendem Alkohol, sowie in Essigäther leicht löst. In H_2O, Alkalien oder NH_3 sind sie sämmtlich unlöslich.

3. Verhalten der Chromophane.

Neu und von besonderem Interesse waren die meisten Lösungen des Rhodophans. Während die sauren oder alkalischen

Alkohollösungen, die ätherischen und die mit Fetten hergestellten Auflösungen des Körpers nur im concentrirten Zustande dem Scharlach zuneigen, im verdünnten mehr in's gelbliche oder chamoisfarbene schlagen, bewahrt die Chloroformlösung die röthere Nuance noch bei großer Verdünnung und ist die in CS_2 vollkommen violett. Aus dem CS_2 mit Alkohol ausgefällt bildet das Rhodophan dunkelviolette Tröpfchen, die allmählich zu einer harzigen Masse von tiefster Purpurfarbe erstarren. Wie schon erwähnt schlugen alle Versuche, die Pigmente krystallinisch zu erhalten, fehl, namentlich auch ein Verfahren, das beim Luteïn und Elaeochrin, selbst beim Lecitochrin die besten Dienste geleistet hatte, und das in langsamem Eintrocknen mit Alkohol versetzter amorpher Präparate unter einem recht großen Deckglase bestand.

In einer Beziehung bereiteten die jetzigen besser gereinigten Chromophane eine Ueberraschung: es wollte die Reaction mit Jod-Jodkalium daran nicht glücken, am Rhodophan auch die mit salpetriger Säure nicht gerade brillant. Nur die tiefblaue Farbe mit concentrirter H_2SO_4 trat überall intensiv auf. Alle 3 Farbstoffe in der verschiedensten Weise mit Jodlösung behandelt, theils in concentrirtester Lösung in Gestalt firnißartiger Tropfen und Schlieren, oder frisch aufgetrocknet, auch wieder mit kleinen Mengen Fett versehen, nahmen mit Jod höchstens Schmutznuancen, durchaus nicht die deutlich blaugrüne Farbe an, welche *Schwalbe* an den Zapfenkugeln und ich an den zwar von Fetten, aber nicht von Nhaltigen Verunreinigungen getrennten Präparaten erhalten hatten. Da mir die Widerspänstigkeit einiger Fettpigmente gegen das Reagens vom Carotin her bekannt war und ich kaum glauben kann, das vielfach unkrystallisirtes Carotin etwas farbloses als Verunreinigung enthalte, dem die Jodreaction zuzuschreiben wäre, so bleibt der Ausfall derselben an den Chromophanen einstweilen unerklärt. Ich muß aber von neuem daran erinnern, daß

das Rhodophan in dieser Beziehung früher schon aufgefallen war und daß die mangelhafte Färbung mit Jod auch dem fein vertheilten genuinen rothen Farbstoffe im Innengliede der Zapfen der Taubenretina eigen ist.

4. Bemerkungen über die Zersetzlichkeit und Lichtempfindlichkeit der Fettpigmente und Chromophane.

Bei Abwesenheit des Lichtes erweisen sich die Farbstoffe am dauerhaftesten in Gegenwart von Alkalien und nach Entfernung ihrer genuinen Lösungsmittel, vor allen des Fettes. Am wenigsten haltbar sind die Abdampfungsrückstände der ätherischen, alkoholischen und anderer die Fette zugleich enthaltenden Lösungen: dieselben werden in dünnen Schichten der Luft ausgesetzt in wenigen Tagen farblos während die Lösungen selbst, wenn das Fett darin nicht außerordentlich überwiegt, zwar vor Verdunstung geschützt aber mit viel Luft in Berührung, nach Monaten kaum an Farbe einbüßen. Nur die sehr unreinen, Stücke der Bulbi enthaltenden Alkoholpräparate machen hiervon eine Ausnahme und es scheint die bald eintretende Zerstörung der Chromophane mit jener eigenthümlichen fermentativen Zersetzung zusammenzuhängen, die man an solchen Mischungen kennt. Lösungen der Chromophane in Oelen entfärben sich je nach der Begünstigung des Luftzutrittes mehr oder minder rasch, binnen kurzem z. B. durch mehrmaliges Filtriren. Dabei ist die Temperatur von Einfluß; doch habe ich in der Wärme auch Entfärbung eintreten sehen, unter Umständen, wo vorwiegende Mitwirkung des Sauerstoffs nicht wahrscheinlich war, z. B. als eine tief rothe Rhodophanlösung in Oel, aus der Reste von Chloroform und Aether vertrieben werden sollten, in einem langen engen Cylinder, den sie kaum zur Hälfte füllte, 3 Stunden in einem Wasserbad versenkt worden war. Ferner bemerkte ich, daß Sieden mit Wasser oder Eindampfen der Lösungen in mäßig starkem Alkohol auf

dem Wasserbade den Farbstoffen verderblich wird. Ich meine damit nicht nur die Bräunung begleitender myelogener Stoffe, sondern eine Erscheinung, die an davon möglichst befreiten Pigmenten vorkommt, und die ich am auffallendsten beim Luteïn sah, wo die gelbe Masse plötzlich bräunlich mißfarben wurde unter Verbreitung eines eigenthümlichen, auffallend an Ozon erinnernden Geruches. Endlich wirken Terpentin und Mischungen von Alkohol und Essigsäure nach einiger Zeit zerstörend, auf das Rhodophan auch CS_2 in 2—3 Tagen.

Die Lichtempfindlichkeit ist weitaus am größten in den Chloroformlösungen und wird darin wenig beeinflußt selbst durch beträchtliche, $^1/_4$ des Volums etwa betragende Zusätze von Alkohol, Aether, Fetten und myelogenen Stoffen. In CS_2 fand ich die Lichtempfindlichkeit durchaus im Gegensatze zu *Capranica*'s Angaben äußerst gering. Da manches käufliche Chloroform für sich, oder wenn etwas organische Substanz, ein Stückchen Kork oder Harze z. B. hineingelangen, durch Licht zersetzt wird, schien die wenigstens 20 mal größere Lichtempfindlichkeit dieser Lösungen verdächtig: ich habe aber in keinem Falle unser Chloroform nach gründlichster Besonnung die Farbstoffe im Dunkeln bleichen sehen und ebensowenig einen Einfluß gebleichter Pigmentchloroformlösungen auf zugesetztes neues Pigment wahrnehmen können, weder in der Dunkelheit, noch im Lichte bezüglich des zeitlichen Verlaufes fortgesetzter Bleichung.

Wie viel mehr das Licht auf die Chloroformlösungen, als auf andere wirkt, mag folgendes Beispiel zeigen. Ich löste einige Carotinkrystalle in Chloroform, theilte in zwei Hälften, verdunstete die eine und löste den Rückstand in gleichem Volum CS_2. Beide Lösungen wurden wieder getheilt, um Controlproben zum Verweilen im Dunkeln zu haben. Zwei Proben in gleichen Probirröhrchen wurden (12. Jan. 11 Uhr) der unbedeckten Sonne ausgesetzt. Um 12 Uhr war die Chloroformlösung fast entfärbt,

die in CS_2 kaum merkbar verändert, um 12 Uhr 30 Min. die erstere ganz farblos, die andre etwas gelblicher roth, als die zugehörige Dunkelprobe; um 3 Uhr wurde sie orange und am folgenden Tage nach dem Stehen im Freien von 11—4 Uhr, während die Sonne zuweilen hervorgetreten war, erschien sie noch tiefgelb; erst am Nachmittage des 15. Jan., nach übrigens trüber Witterung, war die Entfärbung annähernd vollendet; die Dunkelproben hatten sich nicht verändert. Mindestens gleich große Differenzen ergaben alle andern Fettpigmente und Chromophane (mit Ausnahme des zu dem CS_2-Versuche nicht verwendbaren Rhodophans), auf gleiche Art, freilich in nicht so reinem Zustande exponirt.

Die Farbstoffe untereinander auf ihre Lichtempfindlichkeit zu vergleichen, ist heute vielleicht vergebliches Beginnen, da man nicht wissen kann, welchen Einfluß die Verunreinigungen darauf haben. Da sich jedoch der Einfluß von Fetten und myelogenen Stoffen, wenn nicht in colossaler Proportion zugefügt, als höchst unerheblich erwies und nicht unbeträchtliche Zusätze von Terpentinöl z. B., das als alleiniges Lösungsmittel die Farbstoffe im Dunkeln bald entfärbt, wider Erwarten, nicht erkennbar fördernd wirkte, habe ich einige Reihenprüfungen nicht unterlassen wollen. Die größte Schwierigkeit bereitete das Gleichstellen der Sättigung in den Proben verschiedener Pigmente und es wurde diese zu erreichen gesucht, indem durch Verdünnung Lösungen hergestellt wurden, welche in gleich dicker Schicht die Absorptionsstreifen grade deutlich zeigten. Große Differenzen ergaben sich auf diese Weise zwischen dem Carotin und allen andern Pigmenten, dann unter den übrigen und dem Rhodophan, das am lichtbeständigsten schien, kleinere unter den übrigen. Während die großen Differenzen in 30 bis mehr als 40 Min. zu bemessen waren, betrugen die kleineren 10—15 Min. und sind deshalb vielleicht nicht so maßgebend. Die wiederholt beobachtete Reihe abnehmender Licht-

empfindlichkeit lautet: Carotin — Elaeochrin, Luteïn und Lipochrin — Lecitochrin und Chlorophan, Xanthophan — Rhodophan[1]). Die Reihe zeigt ein merkwürdiges Anklingen an die der Maxima der Absorptionsstreifen der Pigmente, insofern dieselben vom Carotin bis zum Chlorophan immer weiter zur brechbareren Seite rücken. Nur bezüglich der Stellung des Xanthophans zum Chlorophan und für das Rhodophan trifft dies nicht zu, allein diese beiden zuletzt bleichenden Pigmente dürften wegen ihres einstreifigen Spectrums überhaupt zu dem Vergleiche nicht heranzuziehen sein. Namentlich die Chromophanlösungen werden während der Lichtbleiche opalescent.

Außerordentlich verzögert wird die Lichtbleiche überall durch leichtes Ansäuern mit an sich möglichst ungefährlichen sauren Reagentien. Am vortheilhaftesten erwies sich direktes Auflösen der Pigmente in käuflichem, stark sauer reagirendem Essigäther, worin ich Rhodophan seit einigen Monaten am Lichte kaum verändert sehe. Auch schwaches Ansäuern mit Phosphorsäure macht die alkoholischen Lösungen nahezu indolent, während etwas größere Zusätze der Säure in einigen Wochen im Dunkeln Verfärbung bewirken. Man kann nicht wissen, ob die seit lange am Luteïn bekannte, von *Mays* an den retinalen Chromophanen bemerkte Indolenz gegen Licht, bei Ausschluß der Atmosphäre durch CO_2, nicht durch die CO_2 an sich erzeugt wurde und wird wenigstens die evidenteste Zersetzlichkeit der Chloroformlösungen durch Licht bei Ausschluß des Sauerstoff durch irgend welche andere sicher indifferente Gase oder sonstige Mittel untersuchen müssen, wenn *Capranica*'s Angabe, daß die Lichtbleiche auch im *Torricelli*'schen Vacuum erfolge, widerlegt werden soll.

Von allen Lösungen werden ohne Zweifel die in fetten Oelen am langsamsten, selbst sehr verdünnte, in schmalen 3—4 Ctm.

[1]) In veränderter Weise und unter Mitwirkung anderer Factoren ausgeführt, ergiebt die Belichtung der drei in Chloroform vereinigten Chromo-

hohen Schichten erst nach vieltägiger Besonnung gebleicht. Immer bereitet dem Vergleiche aber die Veränderlichkeit dieser Lösungen auch im Dunkeln erhebliche Schwierigkeiten, denn wenn man auch über den Unterschied der Proben alsbald ein Urtheil gewinnt, so wird man die Lichtwirkung ohne Abzug dessen, was in der beleuchteten Probe ohnehin an Pigment verloren gegangen wäre, überschätzen.

5. Zur Spectroskopie der Chromophane.

Zum Verständnisse der Absorption der genuinen Chromophane, welche bisher nur an dem mikroskopischen Objecte der Zapfenkugeln von gegebenem Durchmesser und gegebener Farbensättigung untersucht worden ist, war es nöthig, das spectrale Verhalten unserer Pigmente in concentrirteren und namentlich in mit Fetten hergestellten Lösungen zu prüfen.

Ich habe mich dazu einiger Einrichtungen bedient, die vielleicht mit Nutzen zu beschreiben sind.

Hermann's Hämoskop ist für die uns beschäftigenden Erscheinungen im lichtschwächeren Theile des Spectrums und für Streifen, die sich an Deutlichkeit der Begrenzung mit den bekannteren der Hämoglobine, des Hämatins, Chlorophylls u. s. w. nicht messen können, unentbehrlich. Es hat aber den Nachtheil viel Material zu beanspruchen, bei geringer, kaum 30 mm erreichender Schichtendicke. Ich habe neuerdings derartige Instrumente, sowohl aus Hartgummi, wie aus Messing herstellen lassen, welche Verlängerung auf 80 mm gestatten, mit einem Lumen von nur 4 mm Durchmesser, und also sehr wenig Flüssigkeit fassten. Der durchsichtige Verschluß wird durch eingeschliffene, auf beiden Endflächen polirte cylindrische Glaspfropfen be-

---

phane Aehnliches, indem die Mischung zwar heller, aber erst röther, dann chamoisfarben, endlich rosa wird; im letzten Stadium ist in langen Schichten spectroskopisch nur Rhodophan zu erkennen.

wirkt, die keines Kittes bedürfen. Bequemer noch finde ich gewöhnliche Probirröhrchen oder 10—30 Ctm. lange Röhren von 4 mm Durchmesser, durch die das Licht parallel der Axe fällt. Es giebt dafür käufliche Einrichtungen mit Beleuchtungsspiegel und vertical gestellten Spectroskopen grader Durchsicht. Da die letzteren für unsere Zwecke weniger geeignet sind, ließ ich den gewöhnlichen *Kirchhoff*'schen Spectralapparat vor dem Spalte mit einem total reflectirenden, durch eine Drehung leicht zu beseitigenden Prisma versehen, dessen eine Kathetenfläche horizontal über die Mündung der Röhren gebracht wird. Indem man die Röhren an Stelle des Tubus eines Mikroskops befestigt und das Licht nur durch den Spiegel am Fuße eintreten läßt, unter sorgfältigem Schutze aller übrigen Theile im Dunkelzimmer, wird die Einrichtung zu einer äußerst handlichen. Die Krümmung am Boden der Röhren zu beseitigen, hatte keinen ersichtlichen Vortheil.

In Fig. 20 stellen die Curven *a* bis *ef* die Absorption des Rhodophans dar: *a* der Lösung in CS_2, *b* in Erdnußöl, *c* in Aether, *d* in PO_4H_3 enthaltendem Alkohol, *e* in ammoniakalischem Alkohol. Die punktirten Linien geben die mit den betreffenden Lösungen erzielten Maxima, richtiger das weiteste Vorrücken der Absorption zum rothen Spectralende an, womit natürlich nicht gesagt ist, daß dieselben nicht mit Hülfe concentrirterer Lösungen oder dickerer Schichten noch überschritten werden könnten. Mehrfach reicht die Beschattung über *D* hinaus und bildet rasch ansteigende, noch näher an *D* gelegene Maxima, als es mikrospectroskopisch bisher an den rothen Zapfenkugeln gesehen worden ist. Bei hinreichender, das Maximum vor *F* deutlich zur Erscheinung bringender Verdünnung sieht man diese Stelle mit der Zunahme der Dispersion des Lösungsmittels in der zu erwartenden Weise dem Roth zuwandern und bei der CS_2-Lösung die Begrenzung des Schattens zugleich in merkwürdiger Weise diffus werden. Man möchte hören, was Herr *Wälchli*

zu dem ihm gewiß als „continuirlich“ imponirenden CS_2-Rhodophan-Spectrum sagen würde, nachdem er so bestimmt erklärt hatte, solcher Wandel sei nur durch chemische Veränderung des Farbstoffes möglich. Indeß braucht man den CS_2 nur abzudunsten und den Rückstand in irgend einem der andern Mittel aufzunehmen, um das diesen charakteristische, weniger diffuse Spectrum zu erhalten. Das Absorptionsmaximum der Oellösung liegt augenscheinlich da, wo man es erwarten durfte, nämlich etwa in der Mitte zwischen dem der CS_2- und der Aetherlösung.

Vom Xanthophan und Chlorophan sind in Fig. 21 und 22, *a*, *b*, *c* die Spectra der Lösungen in CS_2, in Erdnußöl und in Aether dargestellt. Die durch punktirte Linien angegebenen Maxima der concentrirteren Lösungen rücken beträchtlich weiter in die grüngelbe Region, als Herr *Wälchli* es an den Mikrospectren der Zapfenkugeln sah, namentlich beim Chlorophan, wo der Punkt durch die Oel- und Aetherlösung bis nahe hinter *b* zu treiben ist. Dennoch ist es mir nicht mit diesen, sondern nur mit den Alkohollösungen, welche die sonst vorwiegend den verdünnteren Lösungen eigenthümliche grünliche Nuance dieses Farbstoffs bei größerer Sättigung bewahren, gelungen, erkennbare Beschattung des Roth von *B* nach *a* zu erzielen, während das erste Maximum in diesem Falle näher bei *F* lag, als bei den übrigen concentrirten Lösungen, nämlich fast in der Mitte zwischen *F* und *b* (vergl. Fig. 22 *d*). Charakteristisch für das Xanthophan ist das rasche Ansteigen der ersten Absorption, ähnlich wie das des Rhodophans im Gelb.

Daß die Absorptionsstreifen mit keiner der concentrirteren Lösungen irgend eines der Chromophane sichtbar wurden, so lange die geschilderten Maxima in der weniger brechbaren und lichtstärkeren Spectralregion zu beobachten waren, würde ich nicht erwähnen, wenn man es nicht in Utrecht erwartet hätte.

III. Die Chromophane in den Zapfenkugeln.

Die bisherigen Untersuchungen ergaben als färbende Bestandtheile der Zapfenkugeln „mindestens“ 3 Pigmente ohne eine größere Anzahl auszuschließen und ich bin heute nur in der Lage, unsere frühere in dieser Beziehung reservirt gehaltene Aeußerung aufrecht zu erhalten. Unter den Vögeln (ganz abgesehen von den Reptilien) finden sich so große, an die Species gebundene Differenzen der Zapfenfärbungen, daß ich das Verfahren Herrn *Wälchli*'s, das selbst unsern, ausschließlich an der Hühnerretina durchgeführten Untersuchungen gegenüber, gar keinen Unterschied macht zwischen Taube, Huhn, Ente, Fink (welcher Fink?), für nicht gerechtfertigt halte[1]).

Manche Verschiedenheiten der Zapfenkugeln könnten auf Mischungen der bekannten Chromophane beruhen, z. B. die Stufen von der rothen zur orangen, gelben und gelbgrünen Färbung, die durch künstliche Mischungen der Chromophane leicht nachzuahmen sind. Am unsichersten ist bei allen Autoren die Bezeichnung der gelben, gelbgrünen und grünen Kugeln und doch ist es sicher, daß manche recht grüne beim Huhn und der Taube vorkommen, bei andern Vögeln grasgrüne oder rein grüne, sehr intensiv gefärbte, ohne gelbliche Nuancen sogar in großer Zahl.

[1]) Könnte der Zufall diesesmal von der Regel entbunden haben, daß sich niemand peinlicher an das fragliche Material zu halten habe, als wer Widerspruch erheben will, so hätte Herr *Wälchli* wenigstens sorgfältiger in den Angaben über das von ihm benutzte sein sollen; es ist eine unerträgliche Aufgabe, in solchem Falle noch Unordnungen eines Autors entwirren zu müssen. Ich versuche es, wie folgt: S. 315 l. c. wird auf das bewußte Taf. XII Fig. 3 *a* abgebildete Spectrum mit Absorption im Roth verwiesen, als von einer grünen Kugel der Taube: auf der Tafel steht Huhn; nach der Tabelle S. 308 scheint „Huhn“ richtig. — S. 318 steht statt meiner Taf. IV Fig. 14, Taf. 3 Fig. 7. — S. 315 soll die Absorption der gelben Kugel (laut Fig. 2) bei λ 0,535 beginnen; auf der Tafel beginnt sie bei 0,51; ebensowenig stimmen die Zahlen für den steilen Absturz (0,52 statt 0,50) und für das Ende des Spectrums (0,44 statt 0,46).

Es könnte daher wol ein viertes ausgesprochen grünes Chromophan existiren, wenn nicht die Farbe entsteht durch Mischung mit einem ebenfalls noch nicht dargestellten blauen Pigmente. Letztere Annahme wäre die einfachere und ist nicht unberechtigt, denn an dem Vorkommen hellbläulicher, stahlfarbener, selbst satt himmelblauer Zapfenkugeln zweifelt Niemand, der die Netzhäute hinreichend zahlreicher und verschiedener Vogelspecies untersucht hat. Auch beim Huhn wird das Vorkommen bläulicher Kugeln von mehreren Beobachtern behauptet und ich zweifle nicht mehr daran, seit ich gehörig verdünnte Netzhautemulsionen, in denen die Kugeln zur Verhütung von Contrasten möglichst zerstreut lagen, genügend untersucht habe; es scheint mir sogar, daß alle sog. farblosen kleineren Kugeln bläulich sind. Allerdings hängt das Urtheil sehr von der Beschaffenheit der Mikroskope ab: mit *Zeiss*'schen Linsen sieht man die Färbung leichter, als mit *Hartnack*'schen weniger in Blau übercorrigirten, und überdies bedarf das Auge des Beobachters möglichster Ruhe und des Schutzes vor Nebenlicht. Herr *Wälchli*, dem es aufzufallen scheint, daß ich zur Vergleichung der Chromophane mit den genuinen Zapfenfärbungen „gute achromatische Mikroskope" forderte, wird noch Gelegenheit erhalten, sich dessen bei einigen wichtigen Punkten, die ihm entgangen sind, zu erinnern.

Wenn man Hühnerretinae im feuchten Raume am Tageslicht länger liegen läßt, so erblassen die gelbgrünen Kugeln zuerst, während deren grünliche Nuance in einem nicht zu weit vorgeschrittenen Stadium entschieden deutlicher wird; etwas später ist die Zahl größerer bläulicher Kugeln entschieden vermehrt. Läßt man Präparate, in verdünntem Glycerin oder schwacher Salzlösung zerstreuter Zapfenkugeln, z. Th. unter grünem Glase z. Th. unter Kupferoxydammoniak anbleichen, so findet man die ersteren bald reicher an blassgrünen, ärmer an gelbgrünen, die andern Präparate mit zahlreichen recht deutlich bläulichen Kugeln

durchsetzt, die nachträglich in gelbgrüner Beleuchtung rasch gänzlich entfärbt werden. Dies macht den Eindruck, als ob die ursprünglich grüneren Kugeln außer Chlorophan etwas blauen Farbstoff enthielten, welcher im kurzwelligen Lichte am besten, etwas weniger, jedoch länger als das Chlorophan, in grüner Beleuchtung aushielte. An einer Chlorophanlösung, die ich in der Vermuthung, daß sie das Kyanophan mitenthalte, auf ähnliche Weise belichtete, sah ich unter allen Umständen nur die deutlichere grüne Nuance hervortreten, die man auch durch bloßes Verdünnen erhält und erst nach vollkommener Bleichung einen Stich in's Bläuliche auftreten, der sich weiterhin im Lichte erhielt und nur bedingt war durch die feine Trübung, welche das Licht in den Chloroformlösungen aller Chromophane erzeugt. Dagegen sind mir deutlich bläuliche, am Lichte langsam farblos werdende Flüssigkeiten vorgekommen, wo Lösungen noch fetthaltiger Chromophane in gallensauren Salzen die Farbstoffe größtentheils mit Aether entzogen wurden, und dann war es die wässrige Lösung, welche den bläulichen Schimmer zeigte.

Auch bei den Schildkröten und Eidechsen kommen bläuliche Kugeln vor, bei Lacerta muralis neben gelben und gelbgrünen, und während die kugellosen Zapfen ein gelbes Innenglied haben, fehlt denen mit bläulicher Kugel jegliche sonstige Färbung.

1. Mikrospectroskopische Untersuchung.

Schon um dem Vorwurfe zu entgehen, das Beispiel Herrn *Wälchli*'s befolgt zu haben, der sich die Mühe nicht geben wollte, die Chromophanspectra erst anzusehen, bevor er sie mit denen der Zapfenkugeln verglich, hielt ich es für geboten, seine auf das mikroskopische Gebiet beschränkt gebliebene Untersuchung durch eigene Anschauung zu controliren. Einmal auf Verbesserungen der Mikrospectralapparate aufmerksam gemacht, hoffte ich überdies den lange gehegten Wunsch erfüllen zu können, die

Absorption der einzelnen Chromophane in situ mit allen den Hülfsmitteln zu untersuchen, welche bisher zwar an größeren Quantitäten der Pigmente in Verwendung gekommen waren, aber doch nur an solchen, die erst unvermeidlich gemischt werden mußten, ehe man sie wieder trennte. Wie es für die vorzunehmende Vergleichung an den Chromophanlösungen die Aufgabe gewesen war, sie auch in dem Sättigungsgrade der Farben der Zapfenkugeln zu untersuchen, so war es an den letzteren ein wesentliches Erforderniß, sie nach Belieben abzuplatten oder zu verdünnen. Herr *Wälchli*, der in letzterer Beziehung so gut wie nichts erstrebte, äußert sich auch über die zu seinen zwei schwachen Abplattungsversuchen benutzten Mittel garnicht.

a. Zurichtung des Objectes. Verdünnung der Zapfenkugeln.

Objecte von der Größe der Zapfenkugeln platt zu pressen gilt für schwierig, ist aber, wie alles unumgängliche ausführbar. Am schwierigsten ist die Abplattung unter Controle durch das Auge. Ich habe sie mit einem durch Herrn *Zeiss*' Kunst hergestellten sog. *Schacht*'schen Compressorium ausgeführt, dessen Platten so vollkommen aufeinander polirt waren, daß man die concentrisch auftretenden *Newton*'schen Ringe bis zum optischen Contacte fortzudrücken vermochte. Da das Deckglas unter einer gewissen Dicke nicht herzustellen war, mußte sich die Vergrößerung auf *Hartnack*'s Immersionssystem 9 beschränken, dessen Focaldistanz hinreichend wurde, wenn man die Correktionsschraube ganz herabstellte und die Linse in eine stark brechende Auflösung von Choralhydrat in concentrirtem Glycerin tauchte. Natürlich durfte das Object keine Luftbläschen, welche die Zapfenkugeln wie Riesenpolster schützen und sich zu großen Landkartenfiguren umgestalten, enthalten und möglichst nur aus den bunten Kugeln bestehen. Um es herzustellen habe ich aus frischen Netzhäuten durch Schütteln mit Wasser, verdünntem Glycerin, Kochsalzlösung

oder entfärbter Galle Emulsionen bereitet. Die Kugeln widerstehen begreiflich um so mehr, je kleiner sie sind, aber es scheinen manche größere rothe Kugeln besonders schwierig zerdrückbar zu sein und bei jedem Pressverfahren sind sie es, welche statt platt und buchtig zu werden z. Th. in eine Art zierlichen Planetenhaufen zerfallen. Nach genügender Pressung nehmen die flachen Farbenflecke die Kugelgestalt nicht wieder an; ihre Größe kann je nach der Form im längsten Durchmesser den der ursprünglichen Kugel um mehr als das 5fache überschreiten. So gut man die Spectra bei zunehmender Abplattung beobachten konnte, so wenig gelang dies während der Rückkehr zur alten Form.

Ungemein leicht sind die Zapfenkugeln in noch höherem Grade abzuplatten oder auszuwalzen, indem man von einer nicht zu dünnen größeren Glimmerplatte die obere Fläche an einer Ecke in Deckglasdicke abhebt und die Netzhautemulsion während des Aufspaltens zwischen die frisch gebildeten Flächen treten läßt. In der am weitesten vorgetretenen dünnen Flüssigkeitszunge zeigen sich dann die Kugeln schon ohne Ausübung besonderen Druckes abgeplattet und vollends werden sie in jeder beliebigen, selbst zu großen Verdünnung gefunden, nachdem man das Glimmerstück mit einem Tuchballen kräftig streichend gepreßt hat. Dasselbe Verfahren schlägt, obschon nicht so ergiebig auf einem gewöhnlichen Objectträger mit einem großen, biegsamen Deckglase an, ohne jedoch Vortheile zu gewähren, da die Unebenheiten der Glimmerbedeckung besonders bei Immersionssystemen kaum nachtheilig sind.

Ein drittes sehr zu empfehlendes Verdünnungsverfahren besteht in der Umwandlung der Zapfenkugeln in kleine Seen mit ebener Oberfläche, die man leicht durch Einlegen gut mit concentrirtem Glycerin durchtränkter und fein zerzupfter Netzhautstückchen in einen Tropfen Oel erzielt. Es dient neben den Pressungen ohne lösende Zusätze zum Beweise, daß die fetten

Oele nichts an den genuinen Farbstoffen ändern und hat den Vorzug, alle rothen Kugeln ohne Zertheilung auszudehnen. An diesen Objecten ist jeden Tag neues zu sehen, da sich die Farbenflecke unter der Last des Deckglases ganz allmählich vergrößern und blasser werden, an manchen Stellen auch zusammenfließen unter Bildung lehrreicher Mischfarben, was durch Druck mit der Nadel zu beschleunigen ist. Auffallender Weise sind es hier die gelben und gelbgrünen Kugeln, welche Neigung zum Zerfallen zeigen, obwol in anderer Weise, als die rothen durch Druck, indem sich nämlich diffuse Flecke mit eingestreuten intensiver gefärbten Körnchen von unregelmäßiger Gestalt in den nächstliegenden Retinaresten bilden. Um es zu vermeiden, habe ich versucht die wässrigen oder Galle enthaltenden Netzhautemulsionen auf dem Objectträger antrocknen zu lassen und nachher mit Oel zu befeuchten: die Kugeln wurden in diesem Falle aber entweder zu rasch aufgelöst, oder sie widerstanden der Lösung ganz, wenn das Deckglas nicht umhergeschoben wurde. Beiläufig mag bemerkt werden, daß die Zapfenkugeln wol nicht so structurlos sind, wie man glaubt, und auch nicht ausschließlich aus Fetten und Chromophanen bestehen, da gegen ersteres das körnige Zerfallen der gelben Kugeln und das Zurückbleiben kleiner Scheibchen oder Ringe mit röthlichem Interferenzglanze, das man an Stelle jeder angetrockneten, später mit Oel genügend behandelten Kugel findet, gegen letzteres die im Vergleiche zu den Fetten etwas größere Vergänglichkeit in concentrirter Galle spricht. Die rothen Kugeln hinterlassen nach dem Antrocknen häufig von pigmentreichen Wülsten gebildete Ringe, mit einem kaum gefärbten körnigen Centrum.

Unschwer erkennt ein farbenkundiges Auge in der Regel das Herkommen auch der blassesten und am weitesten abgeplatteten Zapfenkugeln: die gemischten Tropfen an einer eigenthümlichen Orange-chamoisfarbe, die gelben und gelbgrünen als Verdünnungen

des Xantho- und Chlorophans. Nur bei den rothen Kugeln bedarf es längerer Erfahrung: ein Theil geht sehr entschieden zum Orange, so daß man nur aus der Sättigung unter Berücksichtigung der Größe auf das ursprüngliche Roth schließen kann, während ein anderer Theil mehr in's Chamoisfarbene schlägt. In diesem Falle gestattet erst die Betrachtung des Spectrums Unterscheidung von Mischtropfen.

b. Bemerkungen zur Mikrospectroskopie.

Als ich mich ungünstig über die Construction der käuflichen Mikrospectralapparate aussprach, hatte ich zwei Punkte im Sinne, auf die ich jetzt näher eingehe, in der Hoffnung Anregung zu Verbesserungen zu geben, derer das für die Gewebsanalyse überaus wichtige Instrument ohne Frage bedarf, um allgemeinere Verwendung als bisher zu finden. Im Laufe der vorliegenden Untersuchung haben sich noch zahlreiche weitere Mängel ergeben, die ich um so mehr hervorzuheben habe, als die Zähigkeit des Utrechter Lobes, das auch von den selbstbemängelten ältesten Constructionen nicht lassen will, dem Fortschritte nur schaden kann.

Meine Einwendungen betrafen Folgendes: 1. die Schwierigkeit, das Bild kleiner Objecte im Spalte bei dem umständlichen Wechsel des Oculars und dem Aufsetzen der Prismen eingestellt zu erhalten, 2. die der Bildgröße entsprechende geringe Breite (Höhe) des Spectrums. Den ersten Fehler erwähnt auch Herr *Wälchli* ausdrücklich und er ist durch die *Zeiss*'sche Einrichtung, welche die Prismen sammt den Vorkehrungen für die Scala und das Vergleichsspectrum einfach über das Ocular zu schwenken und darauf zu fixiren gestattet, gehoben, während der zweite Punkt unbeachtet blieb. Von welcher Bedeutung derselbe ist, wird sich zeigen.

Um zu wissen, was von dem neueren *Zeiss*'schen Instrumente zu erwarten sei, dessen Ausführung wie ich kaum zu sagen brauche, dem hohen Rufe der Werkstatt, aus der es hervorge-

gangen, ganz entspricht, habe ich einige Farbstofflösungen und vornehmlich unsere Fettpigmente in leicht veränderlicher Schicht damit untersucht. Das wegen seiner allgemeinen Anwendbarkeit für Untersuchungen kleiner Substanzmengen an sich vielleicht willkommene Verfahren war dieses: Durch die Oeffnung im Tische eines älteren pankratischen Mikroskops von *Oberhæuser* wurde das zur Aufnahme der Lösung bestimmte, unten plan geschlossene Röhrchen so tief eingesenkt, als es ohne Behinderung der Spiegelbewegung anging. Das Röhrchen erweiterte sich oben zu einem cylindrischen Trichter, der die beim Eintauchen eines Obturators bis auf den Boden größtentheils verdrängte Flüssigkeit aufnimmt. Der Obturator besteht aus einem etwas engeren, unten ebenfalls platt zugeschmolzenen längeren Röhrchen, das zur Abhaltung allen durch seine Wände eintretenden Lichtes in der Achse mit einem nur von einem dünnen Luftmantel umgebenen, am Boden durch eine Spur Canadabalsam in dem Röhrchen befestigten Stäbchen aus weißem Glase erfüllt ist. Am oberen Ende ragt der Glasstab etwas über die Mündung heraus und ist daselbst durch undurchsichtigen Lack fixirt, der auch den ringförmigen Röhrenquerschnitt überzieht. Indem man den Obturator an Stelle des Objectes lichtdicht in den Tubus einsetzt und sein herabgehendes Ende mittelst Zahn und Trieb am Körper des Mikroskops in der Lösung auf- und niedergehen läßt, dringt das Licht zum Tubus durch Flüssigkeitsschichten von verschwindender Dicke bis zu einer von 50 mm und mehr. Für manche Zwecke ist es unnöthig ein Bild der oberen ebenen Obturatorfläche zu erzeugen und setzt man das Spectroskop einfach auf das Ocularende des Tubus, während für andere Fälle das mittlere Diaphragma im Tubus mit einem schwachen Linsensysteme (Nr. 4 von *Oberhæuser*) versehen und so fixirt wird, daß man mit dem Ocular unter allen Umständen ein Bild der Obturatorfläche sieht. Das kleine Chromoskop kann begreiflich so eng gemacht werden, als der Obturator

zu verschmälern ist; an meiner Einrichtung hat das mit der Lösung auszufüllende Lumen 3 mm Durchmesser, bei 60 mm Länge; ich zweifle aber nicht, daß das Röhrchen fast capillar gemacht werden kann, falls der Obturator sich zu einem bloßen Glasfaden vereinfachen ließe, vielleicht indem man die Oberfläche mit Ausnahme der Endflächen undurchsichtig platinirte. Daß der häufig in Flüssigkeiten von hoher Brechung tauchende Obturator durch seinen Cylindermantel kein Licht empfangen darf und ohne die genannte Construction zuviel durchläßt, falls er z. B. nur aus einer am oberen Rande geschwärzten Röhre besteht, haben mich viele Proben gelehrt, trotzdem die Beleuchtung ausschließlich durch den Boden des Chromoskops geschah. Uebrigens gestattet die jetzige Einrichtung schon concentrirtere Lösungen in kleinster Quantität zu untersuchen, da man nur einen Tropfen an den Obturator zu hängen braucht.

Abgesehen von einigen noch zu erwähnenden, später entdeckten Mißständen, brachte die Einrichtung alle Absorptionserscheinungen zur Anschauung, welche im besten Falle von einem homogenen mikroskopischen Objecte zu erwarten sind, das groß genug ist, um mit hinreichend starken Systemen ein die ganze Spalthöhe oder einen größeren Theil derselben deckendes Bild zu geben; das Spectrum wurde in seiner ganzen Höhe von den Absorptionsstreifen durchzogen, deren Lage an der Scala und durch die scharf sichtbaren *Fraunhofer*'schen Linien zu bestimmen war. Bei histologischen Untersuchungen wird dieser Fall jedoch selten vorkommen; vielmehr wird es sich um Verhältnisse handeln, die wir an unserer Einrichtung nachahmten durch Verkürzung des Spaltes etwa bis auf halbe Höhe und Benutzung fast des ganzen offen gebliebenen Restes für das Vergleichsspectrum, an dessen unterer Grenze dann nur eine kleine viereckige Oeffnung zum Durchtritte der aus dem Chromoskope kommenden Strahlen übrig blieb. Jetzt war das Absorptions-

spectrum fadenartig schmal, wie das einer unveränderten Zapfenkugel, z. B. nach unten dunkel, nach oben durch das Vergleichsspectrum begränzt. In unerwartetem Grade sah man darin die vorher scharf bestimmbar gewesenen Absorptionsstreifen weniger deutlich hervortreten und ich habe geübte Beobachter durch das Erscheinen ungeahnter Absorptionsstreifen überrascht, indem ich sie einfach durch Abstellen des kleinen Reflexionsprismas, welches das Vergleichsspectrum producirt, den Spalt verlängern und das Absorptionsspectrum erhöhen ließ. Ohne Zweifel ist das Vergleichsspectrum der Entdeckung schwieriger erkennbarer Absorptionsstreifen hinderlich, weil schwächere Verdunkelungen zwischen den Streifen, durch Contrast mit gleichzeitig helleren Regionen eines benachbarten Spectrums, zu dunkel erscheinen; in unserem Falle kann man sich daher leicht so einrichten, daß die Streifen plötzlich bemerkt werden, wenn das Vergleichsspectrum durch Verschluß der seitlichen Lichtöffnung des Apparats ausgelöscht wird. Es bleibt dann nichts als das fadenförmige Spectrum auf überall dunklem Grunde sichtbar, das bei jeder Untersuchung producirt und zuerst genauer betrachtet werden sollte, weil es in der That sog. Discontinuität am besten wird entdecken lassen. Immer aber bleibt auch diese günstigste Beobachtungsart ein schwacher Nothbehelf, denn es ist eine Kleinigkeit das Mikrochromoskop so einzustellen, daß die Streifen bei voller Höhe des Spectrums bestimmter sind und in dem gleich darauf bis auf 4 mm Höhe (bei 25 Ctm. Sehweite projicirt) reducirten fast spurlos verschwinden. Diese Beschaffenheit des Spectrums der meisten mikroskopischen Objecte ist jedenfalls bis heute der Grund der geringen Verwendung der Mikrospectralapparate gewesen und als ein Fehler zu bezeichnen, da Streifen, die sich sonst als hohe, die Spectralfarben überschneidende dunkle Pfeiler aufdrängen, in dem fadenförmigen Bilde als diffuse Flecke kaum sinnfällig werden. Man kann daher wol behaupten, daß die höchst unzweifelhaften Ab-

sorptionstreifen der Fettpigmente mikrospectroskopisch nicht entdeckt worden wären, ohne es übrigens entschuldigen zu müssen, daß die der Chromophane damit nicht wiedergefunden wurden.

Soweit ich es ohne die Hülfe eines optischen Technikers vermochte, habe ich den Nachtheil der niedrigen Mikrospectra zu heben versucht, indem ich einen größeren gewöhnlichen Spectralapparat mit total reflectirendem Prisma vor dem Spalte an die Stelle des *Amici*'schen Prisma's setzte und von dem *Zeiss*'schen Instrumente nur das Ocularcollectiv sammt dessen Spalt beibehielt. Ein Concavglas oder eine Cylinderlinse verwandelte dann das kleine Bildchen in einen farbigen Lichtstreif, dessen Spectrum die ganze Höhe des Sehfeldes einnahm und bei guter Sonne sofort Streifen sehen ließ, welche zuvor in dem fadenförmigen Spectrum nicht entdeckt werden konnten. Die Unvollkommenheit der mechanischen Einrichtungen gestattete die Anwendung indeß nur am Chromoskop, nicht an den schwieriger einzustellenden mikroskopischen Objecten.

Ich komme zu einem weiteren, wesentlich mit der Applicationsmechanik der Mikrospectralapparate zusammenhängenden Punkte, der aus der Verborgenheit, worin man ihn gelassen, hervorzuziehen ist, um schon bestehende Differenzen aufzuklären und neue zu verhüten. Ich meine die Focaleinstellung, die natürlich da kaum zu beherrschen sein wird, wo die Einstellung des Objectes zum Spalte schon so schwierig ist, wie an den älteren Instrumenten. Die Angelegenheit ist auch erst seit dem Gebrauche der *Zeiss*'schen Vorrichtung berührt worden.

Hat man es mit den überwiegend in Frage kommenden Objecten, wie den Zapfenkugeln, Fetttropfen, Krystallen und Pigmentkörnern zu thun, deren Brechung von der des umgebenden Mediums sehr verschieden ist, so erhält man Bilder, welche denen eines quer zum Spalte vor- und rückwärts bewegten farbigen Glasstäbchens oder einer mit stark brechender Pigmentlösung gefüllten

Röhre ähnlich sind. Am vollkommensten wird das Bild mit dem gewöhnlichen Spectralapparate nachgeahmt durch eine mit unsern Pigmenten gefärbte Oelschliere zwischen zwei naß aufeinander gelegten Glasplatten. In Rücksicht auf die vorhandenen Beobachtungen an den Zapfenkugeln kommen hauptsächlich zwei Einstellungen in Betracht: die von *Talma* und die von *Wälchli* gewählte. Entweder wird ein Bild erzeugt mit breiten dunklen Säumen, dann erhält man das von *Talma* beschriebene Spectrum „mit dunklen Rändern“ im nicht verdunkelten Theile von „ovaler“ Gestalt, oder es steht der größte Durchschnitt des Objectes genau im Focus, wie bei Herrn *Wälchli* und das Absorptionsspectrum ist oben und unten durch je eine feine, namentlich in den hell gebliebenen Regionen scharfe Linie begränzt. Diese Einstellung ist die richtige, weil nur sie den Anfang der Absorption gradlinig, den *Fraunhofer*'schen Linien parallel begrenzt zeigt, im Gegensatze zu *Talma*'s „ovaal“, das den Anfang nicht annähernd genau zu bestimmen erlaubt. Nach meinem Gefühle hätte Herr *Wälchli*, der die *Talma*'sche Arbeit als Richtschnur aufstellte, dies sagen müssen, schon um die Differenzen, in die er selber mit ihr in Folge der Verbesserung des Fehlers gerieth, zu erklären. Indem er es unterließ und auf den *Browning*'schen Apparat, dem ich die ganze Schuld beimaß, nichts kommen lassen wollte, wälzte er in den Augen seiner Leser, welchen er die von mir berührten Mängel des Instruments als „angebliche“ bezeichnete, einen Vorwurf auf Herrn *Talma*, den ich diesem gern erspart hätte. Ohne Zweifel beruhen die beträchtlichen Differenzen über den Anfang der Absorption bei den orangen bis gelbgrünen Kugeln zwischen den Utrechter Autoren fast ausschließlich auf der verschiedenen Einstellung, ebenso die von *Talma* immerhin als Regel angegebene, obschon schwache Beschattung des Roth durch die grünlichen Kugeln, welche *Wälchli* nur in einem Falle bestätigt fand.

Immerhin bleibt es an unserem Objecte eine Schwierigkeit die Focaleinstellung während der Beobachtung richtig zu erhalten; um die Beugungserscheinungen möglichst einzuschränken ist es vortheilhaft, die Kugeln mit annähernd gleich brechenden Medien, z. B. mit Glycerin, Lösungen von Chloralhydrat in Glycerin[1]) oder mit fetten Oelen zu umgeben.

c. Das Spectrum des *Zeiss*'schen Apparats.

Aus dem Abdrucke der Scala und aus den Angaben über die Ausdehnung des Spectrums in der *Wälchli*'schen Publication waren einige der *Zeiss*'schen Einrichtung angehörige, für unsere Zwecke besonders unerwünschte Eigenschaften fast vorauszusehen. Spectra von dieser relativen Ausdehnung der Regionen *D—F* und *F—h* pflegen durch Prismen aus schwerem Flintglase erzeugt zu werden, welches bekanntlich die brechbareren Strahlen beträchtlich absorbirt. Als ich das Spectrum mit eigenen Augen sah, war ich darum weniger überrascht von der geringen Intensität des blauen und violetten Theiles, als von dem Gebrauche, den Herr *Wälchli* davon gemacht hatte. Ohne direktes Sonnenlicht oder bestes Tageslicht konnte hier an das Auffinden der Chromophanstreifen garnicht gedacht werden; und Herr *Wälchli* benutzte das Instrument mit jeder Art Beleuchtung, ja er bediente sich des an kurzwelligem Lichte besonders armen Gaslichtes und führte sogar Messungen, seine sämmtlichen Messungen damit aus. Zu der Unterlassung gehöriger Verdünnungsversuche des zu concentrirten Objectes fügte er dieses hinzu. Hätte er nur ein Huhn geopfert, um sich die Alkohol- oder Aetherlösung der gemischten Chromophane zu verschaffen, und nur beachtet, daß sowol *Capranica*, wie *Ayres* und ich auf Sonnenlicht drangen,

---

[1]) Diese Lösung erweicht und zertheilt die Zapfenkugeln nach einiger Zeit ähnlich den fetten Oelen und verändert die Farbstoffe nach und nach unter Hinterlassung einer gleichmäßigen tiefen Rosenfarbe.

um unter den so viel günstigeren Verhältnissen gewöhnlicher spectroskopischer Beobachtung die Streifen zur Anschauung zu bringen, so hätte er den Versuch aufgegeben, dieselben mit seinen Hülfsmitteln zu erkennen, oder gar zu bestreiten. Wie lästig das Abwarten genügenden Tageslichtes auch war, wir sind nach den ersten Erfahrungen gänzlich von dem Gebrauche künstlichen Lichtes zurückgekommen. Aber Herr *Wälchli* wird sich auf einige Beobachtungen, die er wirklich mit Sonnenlicht anstellte, berufen, oder auf die vortreffliche *Koch*'sche Beleuchtungsmethode kleiner gefärbter Körper, deren Vortheile er nutzte, indem er den *Abbe*'schen Condensor ohne Blendungen verwendete. Ich finde nicht, daß dies genug sei, denn wo die Sonne genügt, das Spectrum bis *h* gehörig zu erhellen, läßt die Blendung durch das Licht von $D-E$ weiter rechts keine scharfe Beobachtung zu, es müßte denn der Spalt bis zur Milderung des Gelbgrün verengt werden, wodurch das Blau und Violett abermals zu dunkel werden. Ich habe nur zwei Mittel gefunden diesem Uebelstande abzuhelfen, indem ich entweder das engste Diaphragma unter den Condensor brachte, das Präparat auf einem an der Unterseite in sehr feinem Korn mattgeschliffenen Objectträger ausbreitete, oder, falls es sich zwischen Glimmerplatten befand, mit diesen auf das Mattglas legte, oder indem ich flach geschliffene, mit Kupferoxydammoniak verschiedener Concentration gefüllte Fläschchen unter dem Codensor befestigte[1]).

Durch einen eigenthümlichen Umstand kam ich auf einen weiteren Fehler des Flintspectrums, der fast zum Aufgeben des Zieles unserer Untersuchung nöthigte und mich leider noch mehr auf die kritische Position gegen Andere, die den Fehler nicht bemerkten, verweist. An den gepressten oder in Oel erweichten Zapfenkugeln war es zwar bald gelungen die für die einzelnen Chromophane wesentlichen Absorptionsstreifen aufzufinden, aber

[1]) Auch eine mit der Kupferlösung gefüllte Keilflasche, die vor der Heliostatenöffnung verschoben wurde, that gute Dienste.

es war mir aufgefallen, daß das Maximum des einzigen Streifens des Xanthophans und des ersten des Chlorophans erheblich weiter nach links gerückt auftrat, als selbst in den Oellösungen der beiden chemisch isolirten Pigmente. In der Meinung, daß die Zapfenkugeln außer den Fetten noch gewisse auf die Dispersion wirkende Körper enthielten und nachdem ich bereits Cholesterin, Lecithin, Protagon in Oel gelöst mit negativem Erfolge bezüglich einer solchen Wirkung geprüft hatte, ersah ich aus den in meinen Zeichnungen enthaltenen Notizen, die ich absichtlich gewöhnlich fortgelegt hatte, um jede neue Notirung möglichst unbefangen auszuführen, daß alle Zeichnungen die Maxima kurz vor *F* nach *b* hin, nahezu an derselben Stelle aufwiesen, und nicht nur die der orangen und gelbgrünen Kugeln, sondern auch die der rothen, bei denen also keine Verschiebung stattgefunden hatte. Ich stellte daher neue Oellösungen der drei Chromophane her und untersuchte dieselben sowol im Mikrochromoskop mit dem *Zeiss*'schen Apparate, wie von neuem mit dem *Kirchhoff*'schen in größeren Gefäßen. Das Resultat war eine constante Differenz zwischen beiden Apparaten und am Mikrospectralapparate völlige Uebereinstimmung der künstlichen Lösungen mit dem natürlichen, (ohne Oelzusatz) gepreßten Objecte der Zapfenkugeln. Indem ich dann mit dem *Zeiss*'schen Vergleichsspectrum arbeitete, also das spectrale Sehfeld nicht mehr bis auf den Durchmesser der zerpreßten Kugeln einschränkte, wurde mir klar, daß das Spectrum zwischen *b* und *F* unter allen Umständen einen dunkleren Streifen darbot, der jede schärfere Bestimmung einer hinzukommenden Absorption in dieser Region vorerst unmöglich machte. Ich vermag nicht sicher zu sagen, durch welche Ursachen die Erscheinung bedingt sei, denn es giebt deren vermuthlich mehrere. Nicht aufgelöste Gruppen *Fraunhofer*'scher Linien können solche Schatten darstellen, aber die Erscheinung ist bei Lampenlicht mindestens nicht undeutlicher; dagegen wäre

eine locale Absorption durch das Flintglas möglich und außerdem kommt der jähe Wechsel der Intensität des Lichtes vor *b* und hinter *F* in Betracht, der schon bei Prismen aus leichtem Flint groß genug ist um die fragliche Region zu einer des Contrastes wegen unbequemen bei der Bestimmung in sie fallender Absorptionsstreifen zu machen.

Man kann auch die Möglichkeit einer Betheiligung des gelben Pigmentes der Macula lutea, das Lipochrin oder Luteïn sein dürfte, nicht ausschließen und wird darüber vielleicht noch entscheiden[1]), daß aber der plötzliche Helligkeitswechsel den größten Einfluß hat, bezweifle ich nicht, weil der Schatten des *Zeiss*'schen Spectrums fast verschwindet durch Abblendung mit Kupferoxydammoniak von solcher Concentration, daß das Spectrum direkten Sonnenlichtes bei weiterem, die *Fraunhofer*'schen Linien übrigens erkennbar lassendem Spalte, von λ 0,62 — λ 0,40 μ, bei engerem Spalte, von λ 0,56 — λ 0,41 sichtbar und von $E-F$ noch sehr hell bleibt, obgleich in dieser Region gemildert und mit der Intensität der hinter *F* gelegenen besser ausgeglichen. Ist dies die richtige Erklärung, so wird sie auch auf den bekannten Irrthum anzuwenden sein, den man regelmäßig und immer in bestimmtem Sinne begeht bei Beurtheilung der Lage in der Nähe von *F* auftretender Absorptionsstreifen, wenn man Lampenlicht gebraucht, das besonders große Unterschiede der Helligkeit vom Grün zum Blau bietet.

Für unsere Zwecke ergab sich aus dem letzten Mißstande die Nothwendigkeit alle Beobachtungen mittelst blauer Blendungen zu controliren. Es ist Zeit die Prismen der spectroskopischen Oculare zu ändern, vermuthlich am besten, indem man

---

[1]) Bekanntlich sieht man häufig im Spectrum rechts von *D* einen schwachen, nicht grade diffusen Schatten, welcher ebenfalls entoptischer Natur sein und von dem Sauerstoff-Hämoglobin in unserm Auge herrühren könnte.

sie durch das *Wernicke*'sche aus Crownglas und Zimmtsäure-Aethyläther ersetzt, das bei noch größerer Dispersion viel weniger kurzwelliges Licht absorbirt[1]). Auf die grade Durchsicht könnte verzichtet werden, falls es zur Erhaltung der Füllung des Hohlprismas nöthig wäre.

Ueber die Länge des Mikrospectrums giebt die *Zeiss*'sche Scala Aufschluß; sie ist bei allen Apparaten, gleich und Herrn *Wälchli*'s Angabe des Anfanges bei λ 0,70 μ nur für gewisse Fälle gültig, da sogar die Linie *A* ohne Abblendung mit rothem Glase sichtbar ist, natürlich bei genügendem Lichte. Bei schwächerem Lichte und wo die Enden des Spectrums-Absorption haben, entsteht dagegen eine gefährliche Unsicherheit, welche hier als letztes Bedenken gegen die zur Zeit angefertigten Mikrospectralapparate hervorzuheben ist.

Der Fehler ist z. B. mit Herrn *Wälchli*'s Zahlen zu belegen, obgleich der Autor nichts von derartigen Mängeln wissen will. Man lese, was er (l. c. S. 308) schreibt:

	I.	II.	III.	IV.
Rothe Kugeln:	vom Hahn.	der Ente.	Taube.	vom Finken.
A. Durchmesser der Kugel	3,7—4	4,0	3—3,2	3—3,2 μ.
B. Anfang und Ende der Strecke schnell wachsender Absorption λ =	0,59—0,57	0,59—0,58	0,59—0,57	0,595—0,585 μ.
C. Ende des Spectrums bei λ	0,50	0,46	0,50	0,445 μ.

Während A bei I. und II. so gut wie gleich, bei II. und III. absolut gleich, ferner B überall nahezu gleich ist, finden sich im Ende des Spectrums, zwischen C I und C II Differenzen von 4 Wellenlängen, zwischen C III und C IV Differenzen von 6 Wellenlängen! Wenn man die Differenzen nicht auf gemischte oder nach der Species wechselnde Farbstoffe zurückführen will, und die Construction des Apparats fehlerhafte Willkühr der Ablesung ausschlöße, müßte auf den Gebrauch sehr wechselnden Lichtes geschlossen werden, aber das scheint durch den Zusatz ausgeschlossen, in dem Herr *Wälchli* sagt: „Zur «Beurtheilung der Zuverlässigkeit der Zahlenangaben

---

[1]) *W. Wernicke.* Neues Flüssigkeitsprisma für Spectralapparate. Zeitschrift f. Instrumentenkunde. Nov. 1881. S. 353.

sei erwähnt, daß Messungen, welche von verschiedenen Beobachtern zu ganz verschiedenen Zeiten (theilweise Monate auseinander) ohne Kenntniß der früheren Resultate gleicher Prüfungen angestellt wurden, absolut identische Resultate für die gleichen Objecte ergaben.“ Wünschenswerth wäre es freilich gewesen, Herr *Wälchli* hätte die sehr kostbare Methode sich „nach Monaten“ gleicher Lichtstärke zu versichern (oder brauchte er wirklich Lampenlicht bei λ 0,445 μ?) angegeben, ebenso die Spaltbreite, auf die es auch ankam. Ich bedauere, es sagen zu müssen: Herr *Wälchli* verschloß sich hier der Einsicht, daß seine Hülfsmittel nicht leisten konnten, was sie ihm durchaus leisten sollten. Es handelte sich nur um die Willkühr der Ablesung, und wir brauchen nicht weiter zu untersuchen, wie man damit nach Monaten zu gleichen Zahlen kam.

Ist das Spectrum so niedrig, wie das der meisten histologischen Objecte und nach oben und unten jedes Nebenspectrum abgesperrt, so hat man den günstigsten Fall für die Beurtheilung der Länge, die begreiflich mit der Spaltweite etwas wächst. Letztere constant vorausgesetzt, wird das Ende des Violett natürlich schärfer bestimmbar, sobald man zur schon bestehenden Absorption Ausschluß der längerwelligen Strahlen mittelst Kupferlösung bewirkt, aber ich habe es auch dann noch recht schwierig gefunden, die äußerste Grenze des Violett zu bestimmen, weil das Spectrum des Apparats eben ein virtuelles, durch Augen- und Kopfstellung auf der Scala verschiebbares ist.

d. Spectroskopie der Zapfenkugeln.

Nach den soeben aufgedeckten Fehlern des Mikrospectroskops um manche Erwartung gebracht, habe ich dasselbe zunächst verwendet, um mit eigenen Augen zu sehen, welche Erscheinungen unter den *Wälchli*'schen Angaben gemeint seien, und um zu erfahren, ob die Einrichtung unter günstigeren Bedingungen der Beleuchtung und Abblendung mehr enthülle, endlich es zu dem Versuche benutzt, die Chromophanstreifen durch Verdünnung des Objectes zum Vorschein zu bringen. Die im vorigen Capitel berichtete, zum Nachtheile des Apparates ausgefallene Controle mit den im Mikrochromoskop geprüften Pigmentlösungen mußte eine Be-

stimmung der Lage von Absorptionsstreifen zwar fast zwecklos erscheinen lassen; ich habe dieselbe aber mit Hülfe mäßiger Abblendungen durch ammoniakalische Kupferlösung durchzuführen versucht.

Aus Herrn *Wälchli*'s Darstellung ist nicht zu entnehmen, ob er gelegentlich auch ohne jegliches Nebenspectrum arbeitete. Um die Absorption im Allgemeinen zu übersehen, mochte dies nicht vortheilhaft sein, weil man dabei schwächere Beschattung zwischen stärkeren leicht verkennt; da es sich aber um die Entdeckung von Streifen handelte, also um jene charakteristischen optischen Wirkungen, die als besonders wichtige und ohne Intensitätsmessungen zu erfassende Erkennungszeichen chemischer Körper allgemein verwendet werden, so kam es weniger auf jene zwischenliegenden diffusen Absorptionen an und die Nebenspectra wurden besser entfernt. Vielleicht liegt in dem fortwährenden Gebrauche, den ich von der Methode neben der andern machte, ein Grund mancher der folgenden Abweichungen.

In keinem Falle war, um diesen Punkt erst zu erledigen, Absorption im Roth sicher zu erkennen, während dies Herrn *Wälchli*, wie mehrfach erwähnt werden mußte, in einem Falle gelang. Ich will damit nicht sagen, daß es überhaupt nicht vorkomme, sondern mich nur noch vorsichtiger aussprechen, als Herr *Talma*. Um über die schwierige Wahrnehmung einer Absorption im Anfange des Spectrums, wo die Linien A, a, B wie durch rauchende Gluth gezogen scheinen, etwas sicherer zu werden, blendete ich das übrige Licht durch tief rothe Gläser ab, unter denen ein Stück fast purpurnen Rubinglases aus einem alten Kirchenfenster vorzügliche Dienste leistete. Verwischung von a oder B oder Unterschiede der Farbe im Spectrum des Objectes und dem Nebenspectrum waren nicht zu erkennen, falls die Einstellung keine Beugungserscheinungen aufkommen ließ. Dagegen würde ich für Herrn *Talma*'s Einstellung vielleicht ein wenig

Verdunklung zugeben, dann aber nicht nur bei den blaßgrünen und gelbgrünen Kugeln, sondern bei fast allen, höchstens mit Ausnahme der rothen.

Spectra unveränderter Zapfenkugeln.

1. Rothe Kugeln. Den Anfang der Absorption fand ich bestätigend bei 59,5—58[1]), wenige noch zu erörternde Fälle abgerechnet, rasch bis 57 oder 56 steigend, die Beschattung beträchtlich abnehmend von 55—52, wieder rasch steigend bis 49 und 48, dann abnehmend, so daß blaues Licht mindestens bis 43,5 aufleuchtete. Ueber den letzteren Umstand bin ich nach zahlreichen mit Sonnenlicht und Abblendung durch Kupferlösung angestellten Beobachtungen außer Zweifel, trotz der Schwierigkeit der Ablesung, indem ich diese durch möglichst axiale Blickrichtung zu sichern strebte und durchaus nicht die entfernteren Punkte der Scalentheilung bis wohin der violette Schimmer bei schiefer Kopfhaltung zu treiben war, notirte. Daß die Absorption bei *F* total sei, behaupte ich nicht, aber daß daselbst ein Maximum liege, wird Herr *Wälchli* noch selber bestätigen, obgleich seine auf Messungen begründete Curve (l. c. S. 314) davon nichts zeigt. Um Mißbrauch zu verhüten, der mit dieser und der andern (l. c. S. 315 von einer orangefarbenen Kugel) Curve des Autors wegen des Anscheines der exacten Basis von Messungen getrieben werden könnte, ist zu erwähnen, daß für erstere nur drei, für letztere nur zwei Punkte bestimmt wurden und nirgends derjenige bei *F*, auf den es ankam: fast der ganze Verlauf ist also willkührlich dargestellt. Ich brauchte dies nicht einmal hervorzuheben, da die Messungen überdies mit dem für die fragliche Spectralregion ganz untauchlichen Lampenlichte und ohne jeden Versuch der Abblendung benachbarter Regionen angestellt sind,

---

1) Die Zahlen bedeuten sämmtlich λ in Hunderttausendsteln von 1 mm.

ein Verfahren, das Niemand rechtfertigen kann, der die jetzigen Methoden der Absorptionsanalyse kennt. Unsere mit Sonnenlicht an den rothen Kugeln und im Mikrochromoskop an concentrirteren Lösungen des Rhodophans in Oel vorgenommenen Vergleichungen lassen keinen Zweifel mehr an der Uebereinstimmung dieser beider Objecte bezüglich des Maximums bei *F* und des Restes kurzwelligen Lichtes bis 43,5 aufkommen.

Dagegen ist, gewisse Fälle abgerechnet, das Spectrum der rothen Kugeln scharf von dem aller Rhodophanlösungen unterschieden durch den Besitz eines andern Streifens, der es zu einem auch im Utrechter Sinne eminent discontinuirlichen macht. Dies ging für Unbefangene schon aus Herrn *Wälchli*'s Curven (l. c. S. 314 und Taf. XII. Fig. 1 *a*) hervor und wird dort durch eine ausnahmsweise entscheidende Messung belegt, insofern die Verdunklung an der richtigen Stelle und in einer Region (57) bestimmt wurde, wo das Lampenlicht genügte. Man braucht in jenen Abbildungen nur eine Parallele zur Abscise im Niveau der Senkung neben dem verzeichneten Buckel zu ziehen, um einzusehen, daß Verdünnung des Absorbenten einen Streifen hervortreten lassen werde, an dessen beiden Seiten höchst wahrscheinlich sogar ganz freie Spectralregionen stehen würden. Indeß das unglückliche Schlagwort vom „continuirlichen Spectrum“, das es den Chromophanen anthun sollte, hat Herrn *Wälchli* um diese Erkenntniß und um die schwerste Waffe gebracht, die es einstweilen gegen uns zu schmieden gab. Obgleich die Rhodophanabsorption leicht über *D* hinaus zu treiben ist und dann so steilen Anfang zeigt, daß man der bekannten Täuschung verfällt, von der nächsten Verdünnung das Hervortreten eines scharfen Grenzstreifens zu erwarten, so läßt blaue Abblendung durch solche gesättigte Lösungen keineswegs kurzwelliges Licht erkennen, wie bei den rothen Kugeln und die Ocularblendung ebensowenig wie die nächste noch so vorsichtig gesteigerte Verdünnung, durch welche vielmehr

nur der allmählich von F bis etwa 53 verlaufende Schatten zum zum Vorschein kommt, keine Helligkeit bei E erkennen.

Dieses ganze merkwürdige Verhalten und das dafür belangreiche Vorkommen sehr vereinzelter tief rothoranger, nur von Rhodophan gefärbter Kugeln, denen Herr *Wälchli*, ahnungslos freilich, auch begegnete, wird in dem Abschnitte über die verdünnten Kugeln verständlich werden.

2. Orange bis rein gelbe Kugeln. Den Anfang der Absorption sah ich zwischen 52,5 und 50 schwankend, um so steiler ansteigend, je weiter er nach links lag. Das erste Maximum lag in allen Fällen ein wenig vor F, etwa bei 49,5, so daß in dieser Gegend ein deutlicher dunklerer Fleck oder Streif erschien, falls der Anfang 51 nicht überschritt. Das Ende schwankte von 47,5—44,5 und rückte jeweils mit dem Anfange zugleich nach rechts, obschon nicht in demselben Maße.

3. Gelbgrüne bis blassgrüne Kugeln. Die Absorption begann in einzelnen Fällen schon bei 51, gewöhnlich bei 50, nahm immer langsamer zu als bei den orangen Kugeln und erreichte ein Maximum bei 49, das Ende bei 42,5—43. Zuweilen war ein localisirter dunklerer Fleck bei 45—46 zu erkennen, das erste Maximum dagegen allgemein durch einen solchen oder einen kaum zweifelhaften Streifen etwa bei F, (nicht vor F) ausgezeichnet. Beginn der Absorption erst bei 47, selbst 46 wurde von einigen sehr blassen Kugeln beobachtet, zunächst schneller ansteigend, als es Herr *Wälchli* in seiner Fig. 3 *a* abbildet und mit dem Ende des Lichtes erst bei 42. In diesen Fällen besonders wurde der weniger brechbare Theil des Spectrums von F bis a mit dem Nebenspectrum verglichen, aber niemals Beschattung bemerkt, weder im rothen Anfange, noch zwischen D und E.

Für alle Arten der Zapfenkugeln ergeben sich also beachtenswerthe Andeutungen localisirter Maximalabsorptionen im Verlaufe der Beschattung und zwar für alle Kugeln Andeutungen eines

Streifens in der Gegend von F, dazu für die rothen noch eines Streifens bei 57, für die gelbgrünen eines bei 45—46. Ob ich diese Andeutungen ohne Kenntniß der Chromophanspectra gefunden oder verstanden hätte, ist aus chronologischen Gründen nicht mehr oder höchstens hinsichtlich des neuen Streifens bei 57 zu entscheiden; ich darf denselben nicht nur zum Andenken an die gleich zu erwähnende merkwürdige Verkettung von Zufällen und Mißverständnissen den *Wälchli*'schen nennen.

Spectra gepreßter oder mit Oel verdünnter Zapfenkugeln.

Zum Verständnisse des Folgenden ist einiges über die Abstufungen der rothen und orangen Farbe sowol bezüglich der Kugeln als der Chromophanlösungen voraus zu sagen.

1. Das Rhodophan (vgl. S. 213) wird in ätherischer, schwach saurer und ammoniakalischer Alkohollösung, ebenso in Oel gelöst durch Verdünnen nicht rosa, sondern orange und gelb und nur in CS_2, Benzol, Terpentin lila bis rosa, in Chloroform rosachamois. Demnach fand ich meine frühere Annahme, die sich auf unsere ausschließliche Kenntniß der Benzol- und Terpentinlösungen oder auf das Aussehen schwer löslicher, stark mit Seifen gemischter Rückstände[1]) stützte, zu berichtigen: im reinen, von andern Pigmenten freien Zustande ist der Körper auch in der Retina nicht purpurn, sondern roth, wie die Oellösung. Seine r o t h e n Lösungen in den erstgenannten Medien sind nur bei starker bis mittlerer Concentration, nicht im verdünnten Zustande oder in schwächeren Schichten durch das Auge direkt von Xanthophanlösungen geeigneter Sättigung zu unterscheiden, sondern es bedarf dazu ebenso wie zur Unterscheidung stärker gepreßter rother Kugeln von den orangefarbenen des Spectroskops. Wie

[1]) *Ayres* und ich hatten zwar auch (stark mit Eisessig) versetzte alkoholische und CS_2-Lösungen gelegentlich gesehen, jedoch von so vergänglicher, rasch gelb werdender Farbe, daß wir kein Gewicht darauf legten.

ich jetzt weiß, sind es nicht die mehr purpurnen Zapfenpigmente, welche mit der Farbe des Rhodophans (in Oelen) übereinstimmen, sondern grade die rein rothen.

2. Die Mehrzahl der rothen Zapfenkugeln, also die bekannten am intensivsten gefärbten, neigen unverdünnt zum Purpur oder Scharlachroth und stimmen erst nach stärkerer Abplattung mit den orangefarbenen Kugeln überein, während sie bei mäßiger Verdünnung noch direkt von diesen durch ein reineres Roth zu unterscheiden sind. Dagegen giebt es einzelne, im natürlichen Zustande reiner rothe, immer noch recht intensiv gefärbte Kugeln (beim Finken wahrscheinlich häufiger als beim Huhn), welche durch die geringste Verdünnung gleich in Orangeroth übergehen. Die letzteren Kugeln, welche ich „Rhodophankugeln" nennen werde, während die andern „Rubinkugeln" heißen mögen, sind zweifellos von Herrn *Wälchli* schon gesehen: er hat sie in der schwach gepressten, ausdrücklich als „röthlichorange" charakterisirten Kugel (vom Finken) vor sich gehabt, deren Spectrum in seiner Fig. 1 *b* abgebildet ist. Beim Huhn fand ich sie selten, obwol in keiner Retina fehlend, gewöhnlich direkt kaum herauszukennen, aber durch den, für die jetzt in Frage kommende Spectralregion vollkommen ausreichenden *Zeiss*'schen Apparat sicher erkennbar. Das gegen die Rubinkugeln unterscheidende Merkmal besteht darin, daß ihre Absorption nicht bei *D*, sondern etwas später bei 58, selbst erst bei 55 und 54 anfängt und sehr allmählich steigt bis zum Maximum bei *F*, während die weite Ausdehnung des Lichtes, mindestens bis 43, den Verdacht, daß man es mit außergewöhnlich gesättigten Xanthophankugeln zu thun habe, ausschließt.

Endlich hebt die Beobachtung während oder nach der Abplattung der Kugeln jeden Zweifel, weil nun entweder zwischen 58—55 ein prächtiger Absorptionsstreif weit vor dem breiten sich nach *F* hin vertiefenden Rhodophanschatten zum Vorschein kommt, wie es gewöhnlich der Fall ist, oder indem sich von jenem

Wälchli'schen Streifen nichts zeigt, während der Anfang des Rhodophanschattens noch bis 54 selbst bis 58 allmählich verläuft.

Der Zufall hat es gefügt, daß Herr *Wälchli* wenigstens bei der ersten seiner beiden Beobachtungen gepreßter Kugeln (bei der zweiten ist es wegen der stärkeren Verdünnung nicht mehr zu entscheiden) grade auf eine „Rhodophankugel" stieß und es ist mir nur ein Vergnügen, das Paradoxon, in das ihn die an sich richtige Beobachtung fallen ließ, endlich aufklären zu können. Damit man den Autor nicht als Opfer der bekannten Täuschung vermeintlicher Streifen im Anfange rasch ansteigender Absorptionen betrachte, ist das wunderliche Resultat einer Farbenverdünnung, welche ein erstes bedeutendes Maximum total verwischte, während ein gleich darauf folgendes Minimum unverändert blieb[1]), näher zu erläutern. Was in Herrn *Wälchli*'s Fig. 1 *a* und 1 *b* zusammen begriffen ist, stellt nicht die successive Veränderung eines Spectrums, sondern den Erfolg der Verdünnung an verschiedenen Kugeln dar, deren ursprüngliche Verschiedenheit verkannt war. Da das Spectrum von 1 *a* als das einer rothen Kugel der Ente bezeichnet und das ursprüngliche Spectrum der abgeplatteten Kugel von 1 *b* (vom Finken) in Herrn *Wälchli*'s Arbeit nirgends aufzufinden ist, so setzt der Autor nur dessen Uebereinstimmung mit 1 *a* oder mit seiner Angabe (S. 308) über eine andere rothe, ungepreßte Kugel des Finken, welche die Sache übrigens noch schwieriger machen würde, voraus und geht über die Erzeugung des ersten neuen Maximums grade an Stelle des ursprünglichen ersten Minimums hinweg, als ob es sich von selbst verstehe. In Wirklichkeit findet eine solche Veränderung niemals statt, sondern das

[1]) Nur auf besonderes Verlangen würde ich mich entschließen, den kritischen Vergleich, den Herr *Wälchli* (l. c. S. 314) zwischen seinem Spectrum rother Kugeln und unserm Rhodophanspectrum versucht, zu beleuchten; derselbe ist gänzlich hinfällig, falls Herr *Wälchli* unsern Abbildungen der Chromophanstreifen nicht den Ausdruck totaler Absorption insinuirt.

Spectrum der Rubinkugeln verliert seinen Anfangsbuckel keineswegs, so lange die Absorption bis 58 oder 59 reicht und zeigt vielmehr einen überaus deutlichen Absorptionsstreifen von 56—58[1]).

Das wirkliche Resultat der Beobachtungen ist demnach: 1. es giebt „Rubinkugeln" deren Spectrum 2streifig ist und sich aus dem des Rhodophans und dem eines andern Farbstoffs (Kyanophan?) zusammensetzt, 2. es existiren (reine) „Rhodophankugeln" mit dem Rhodophanspectrum. An beiden ist nach genügender Verdünnung und falls das Spectralbild hoch genug ausfällt, das wolbekannte Rhodophanspectrum in jeder wünschenswerthen Deutlichkeit zu sehen, an dem ersteren auch ausschließlich, sobald der Kyanophanstreif ausgemerzt ist und die Absorption bei 55 etwa beginnt.

Ich hoffe Gelegenheit zu finden, dem Kyanophan weiter nachzugehen, da es mir bereits gelungen ist an einzelnen bläulichen Kugeln den *Wälchli*'schen Streifen als einzige Absorptionserscheinung zu erkennen.

Die Xantho- und Chlorophankugeln zeigen namentlich wegen der starken Vergrößerung nach gehöriger Pressung und der damit leicht zu erzielenden bedeutenden Erhöhung des Spectralbildes die den isolirten Farbstoffen zukommenden Streifen deutlicher. Ein Theil dieser Kugeln geht jedoch durch übertriebene Verdünnung für die Beobachtung verloren. Die Bestimmung der Streifenlage blieb übrigens immer schwierig, besonders die des zweiten Streifens des Chlorophans. Das Maximum des ersten Streifens schien bei einer Breite von 48—50 grade auf *F*, das des Xanthophans bei gleicher Breite auf 49 ein wenig vor *F* zu fallen

Sowol um die Lage der Maxima besser bestimmen, wie um die Streifen besonders an unverdünnten Objecten überzeugender zur Anschauung bringen zu können, und um der ganzen Peinlichkeit

---

1) Vergl. l. c. Taf. XII λ 57 Fig. 1 *a*, 1 *b* und λ 52 Fig. 1 *a*, 1 *b*.

der Mikrospectra ledig zu werden, habe ich schließlich ein neues Verfahren der Absorptionsanalyse kleiner Objecte versucht, das zugleich zu den wenig absorbirenden Prismen aus leichtem Flintglase, sowie zum Fernrohrbilde und den Vortheilen der Ocularblendungen zurückzukehren gestattete. Die Methode ist außerordentlich einfach: man verwandelt ein horizontal zu legendes Mikroskop mit *Abbe*'schem Condensor in ein Sonnenmikroskop, nimmt ein beliebiges starkes Objectiv, entfernt das Ocular und läßt das Bild in Entfernung von etwa 150 Ctm. auf den Spalt des kleinen *Kirchhoff*'schen Spectroskops fallen. Die Objecte werden, wie immer für direktes Sonnenlicht, auf unten mattgeschliffenen Objectträgern hergerichtet. Zum Auffangen und Einstellen des Bildes wird als Stirnwand vor dem Spectralapparate ein Bogen Schreibpapier angebracht, der an die unbewegliche Seite der Spaltvorrichtung festzukleben und mit einem schmalen Ausschnitte von der Höhe des Spaltes vor diesem zu versehen ist. Die Zapfenkugeln erscheinen darauf als zierliche, etwa $^2/_3$ der Spalthöhe deckende Bilder und im abgeplatteten oder verdünnten Zustande groß genug, um ohne Randtheile eingestellt werden zu können. Ein Nebenspectrum ist, wenn man es braucht, immer herzustellen, andernfalls durch ein undurchsichtiges neben das Bild fixirtes Blättchen auszulöschen.

Im Anblicke der neuen Spectralbilder habe ich nichts entbehrt, als das Vergnügen Herrn *Wälchli* davor stellen zu können. Während die Kugeln eines frischen Objectes langsam über den Schirm wanderten und den Spalt passirten, gaben sie die anmuthigste Darstellung sämmtlicher Spectra, in einer Weise, daß die stumpfen Streifenbilder des kleinen Mikrospectralapparates in unserer Erinnerung als trauriger Nothbehelf versanken. Kommt eine rothe Kugel, so steht der *Wälchli*'sche Streif zur rothen Seite scharf, zur andern diffuser begrenzt als mächtiger Pfeiler am Anfange des absorbirten Theiles, etwas hinter *D*, ungefähr $^1/_3$ des Raumes

von *D—E* einnehmend. Schöner wird die Erscheinung durch Abblenden mittelst des Ocularschiebers, wodurch die Begrenzung nach dem grünen Lichte schärfer ausfällt. Ueberall lag die weitere tiefste Verdunklung ziemlich genau bei *F* (wenn nicht ein wenig hinter *F*) und reichte zwischen den Blendcoulissen erkennbares kurzwelliges Licht bis zum letzten Dritttheil der Strecke von *F—G*. — Die gesättigteren orangefarbenen Kugeln zeigten einfaches Abschneiden des Spectrums bei *b*, bis zum ersten $^1/_3$ von *b F* rasch ansteigend, und Erlöschen des blauen Lichtes am Anfange des zweiten Dritttheils von *F G*; hellere, gelbe Kugeln etwas weiter gehendes Blau und einen diffusen Schatten, dessen Maximum ein breites Stück einnahm, jedenfalls rechts nicht über *F* hinausrückend. Die gelbgrünen Kugeln erzeugten fast alle zwei Schatten, jeder etwa zwei Wellenlängen einnehmend, der erste zu beiden Seiten von *F*, mit dem Maximum ein wenig nach rechts, der andere etwas näher an *F* als an *G*, übrigens sehr schwer genauer aufzufassen, während die Helligkeit sicher bis *G* reichte.

Verdünnung der Kugeln ließ namentlich den *Wälchli*'schen Streifen fast unerwartet gut begränzt und von der Rhodophanabsorption getrennt hervortreten. Entsprechend der viel sinnfälligeren Erscheinung der Streifen in dem hohen Fernrohrbilde sah man davon sogar noch Andeutungen, wenn die Rhodophanabsorption so hervortrat, wie in unsern Abbildungen verdünnter Oellösungen und wenn die Helligkeit selbst bis *h* reichte. Ueber die Lage der Maxima der Xantho- und Chlorophankugeln bin ich einstweilen noch nicht zu abschließenden Resultaten gekommen; es wird mir nur sehr wahrscheinlich, daß sie nicht völlig mit denen der Erdnußöllösungen zusammenfallen, sondern etwas nach links verschoben sind, woraus auf ein stärker dispergirendes Material dieser Kugeln zu schließen ist, das die natürliche Lösung der Pigmente herstellt.

Wir sind am Ende einer der ersten in der Chemie der

Zapfen entstandenen Aufgaben: die Identität der Chromophane mit den praeexistirenden Farbstoffen der Zapfenkugeln ist gesichert, ebenso der Nachweis, daß mindestens drei verschiedene Zapfenpigmente vorkommen und weder die Abneigung antihistologischer Chemiker gegen histochemische Erwerbungen noch das Grausen, das die Behandlung der zarten Retina mit siedendem Alkali erregte, werden daran etwas ändern, auch nicht in Gestalt Utrechter Unterweisungen in unserem *Graefe*'schen Archiv.

Heidelberg, 23. März 1882.

Zu Taf. V.

Erklärung im Texte. Fig. 18 *a—f* im nicht punktirten Theile nach *Capranica*.

Zusatz.

Ueber Fettpigmente, Bilirubin und Hämatoïdin.

Es scheint mir nothwendig, hier Einiges über die viel erörterte Stellung des Luteïns zum Bilirubin anzuschließen.

Die Verwirrung über die natürlich vorkommenden gelben bis gelbrothen thierischen Pigmenten ist nachgrade so groß geworden, daß selbst diejenigen darin befangen bleiben, die sie radical zu bekämpfen meinen. Herr *Maly* schreibt z. B. (l. c. S. 3), *Holm* habe gezeigt, daß die „sog. Hämatoïdinkrystalle apoplectischer Cysten“ keinesfalls aus Bilirubin beständen, ebensowenig die Pigmentkrystalle der corpora lutea — und auf derselben Seite (unter dem Texte), er meine mit dem Farbstoffe der corpora lutea „nicht das Hämatoïdin (apoplectischer) Cysten“, da *E. Salkowski* daran alle Eigenschaften des Bilirubins gefunden habe. Hiermit wird die alte von *Holm* angerichtete Verwirrung wiederholt: was Herr *Maly Salkowski* zuschreibt, war schon 7 Jahre früher und 5 Jahre vor *Holm* von *Jaffe* an einer apoplectischen Narbe des Gehirns erwiesen und *Holm* (Journ. f. pract. Chemie. Bd. 100 S. 142) hatte zu der Ignorirung des *Jaffe*'schen Befundes nur noch den Fehler gefügt, seine eigene Beobachtung über das Grünwerden des Chloroformextraktes apoplectischer Narben, das den Unterschied des Hämatoïdins und des Luteïns, da es an letzteren nicht vorkommt, ohne Weiteres belegt, zu unterschätzen. Viele sind dann durch *Holm*'s irrthüm-

liche Berufung auf die Abbildungen der Hämatoïdinkrystalle in *Funke*'s Atlas getäuscht worden, denn in Wahrheit beziehen sich diese bekannten Abbildungen nicht z. Th. auf Objecte aus dem Corpus luteum, wie *Holm* sagte, sondern auf einen Amputationslappen und auf einen Echinococcussack der Leber (Taf. VI Fig. 2 und 3); ja in dem ganzen Atlas kommt überhaupt kein Object aus dem Corpus luteum vor.

Angeblich um dem so geschaffenen Wirrwarr zu steuern, entstand darauf die Tendenz den Namen Hämatoïdin aus der Welt zu schaffen: die *Virchow*'chen Krystalle sollten in allen Fällen etwas anderes als Bilirubin gewesen sein und es wurde dazu die Anleihe beim Luteïn gemacht, obgleich dessen Krystallform von Anfang an hätte davor warnen sollen, welche sonstige Qualitäten es auch zum Wechselbalge haben mochte. Vielleicht hätte man sich ohne jene Tendenz sachgemäßer bemüht, nachzusehen, ob nicht beide Körper an derselben Stelle auftreten können, oder ob nicht unter dem Namen Hämatoïdin in einigen Fällen zwei auch in der Krystallform verschiedene Körper beschrieben worden seien. Nach Herrn *Maly* wäre dies gewöhnlich der Fall gewesen, etwa wie auf S. 3 seiner Abhandlung, einer Fundstelle, an welcher die Natur indeß unschuldig ist. Endlich knüpfte sich an den Namen Hämatoïdin für das Bilirubin angewendet, noch eine historisch mißliebige Beziehung, einerseits weil Manche von der Entstehung der Gallenfarbstoffe aus Blutfarbstoff überhaupt nichts wissen wollen, oder weil man die Erinnerung an die physiologische Genesis der Entdeckung des Hydrobilirubins verwischen möchte, andrerseits weil es nicht mehr vornehm schien, bei einem reiner dargestellten Körper noch viel Werth auf dessen biologische Bedeutung zu legen. Wie verbreitet die hinter solcher Denkweise liegende Selbsttäuschung sein mag, so ist sie doch nichts anderes als Täuschung, denn in der Chemie ist mit den über das Bilirubin vorliegenden Untersuchungen bekanntlich kein Staat zu machen: da wird dasselbe kaum beachtet oder in die Rumpelkammer der Stoffe unbekannter Constitution geworfen, hinten an's Ende der Lehrbücher mit vielen Genossen thierischen Ursprungs, während der Farbstoff, bei aller Billigung des Verfahrens der Chemiker, in der Physiologie hervorragendes Interesse beansprucht und behält. So verschiedene Würdigung und den Werth thatsächlicher Erkenntnisse auf dem richtigen Gebiete verkennen, heißt auf anderen Gebieten Beachtung zur Unzeit fordern und verspricht Niemandem, der Aufgaben und Erwerbungen der Physiologie unterschätzt, Erfolge in nicht biologischen Disciplinen.

Seit ich mit dem Luteïn und den diesem verwandten Farbstoffen vertrauter geworden bin, habe ich nicht gesäumt, darnach in Objecten zu suchen, in welchen reichlich Hämatoïdinkrystalle vorkommen, oder nach Bilirubin zu fahnden an Stellen, wo sich viel Luteïn findet.

Ein größerer apoplectischer Heerd[1]) in der rechten Großhirnhemisphäre längs des Seh- und Streifenhügels, mit oberflächlicher Erweichung der Substanz beider, schon makroskopisch wie von brauner Galle gefärbt erscheinend, zeigte sich überall von prächtig ausgebildeten, nicht mit krummen Kanten oder Flächen versehenen Hämatoïdinkrystallen durchsetzt. Form und Farbe dieser Krystalle mit der des Luteïns zu verwechseln, scheint mir unmöglich; dieselben sind bei gleicher Dicke weit gesättigter roth, mehr zum braun- oder kupferroth gehend, als die des Luteïns. Dazu kommt das Verhalten bei der Untersuchung über einem Nicolschen Prisma; ich will nicht behaupten, daß dasselbe garkeinen Dichroïsmus erkennen lasse, wie denn auch die Doppelbrechung zwischen beiden Nicols sofort ersichtlich ist, und die Krystalle je nach der Orientirung heller und dunkler gefärbt erscheinen: zwei so verschiedene Nuancen, wie beim Luteïn (gelb und tiefroth) sieht man aber nicht. Ferner sind die Krystalle in concentrirter H_2SO_4 sehr haltbar und werden darin höchstens tiefer braun, nicht blau. Das Gewebe mit Sand und absolutem Alkohol zerrieben, gab ein völlig farbloses Extrakt, dann mit Aether eine schwach gelbe Lösung, zuletzt mit Chloroform extrahirt eine viel tiefer gefärbte grünlich gelbe. Mit keiner der gefärbten Lösungen waren spectroskopisch, trotz Untersuchung in sehr variirter Schichtendicke, Luteïnstreifen zu entdecken. Die Aetherlösung wurde beim Verdunsten grünlich, und der Rückstand in CS_2 aufgenommen gab keine rothe, sondern eine gelbe Flüssigkeit, nach deren Verdunstung Chloroform eine klar filtrirende gelbe Lösung erzeugte. Die letztere wurde mit etwas unreiner Salpetersäure versetzt erst grün, dann blaugrün, blau, violett, roth, endlich gelb, mit concentrirter H_2SO_4 etwas dunkler, bräunlich roth, worauf die zu Boden gehenden Säuretropfen allmählich grün, zuletzt blaugrün wurden. Der ganze Rest der gelben Lösung mit mäßig concentrirter Natronlauge geschüttelt, zeigte nach 24stündigem Stehen zwei klare Schichten, von denen die untere des Chloroforms völlig farblos war. In diesem Antheile des Gewebsextraktes war also kein Luteïn enthalten. Ebensowenig konnte der Hauptmenge des Farbstoffes im letzten Chloroformextrakte Luteïn oder etwas farbiges durch Natronlösung entzogen werden. Beim Abdampfen gab das Extrakt kupferrothe, aus kleinen gut ausgebildeten Bilirubinkrystallen bestehende Rinden und einen nicht krystallisirenden grünlichen Rest. Wie das Bilirubin der Galle löste sich das des Rückstandes auch in CS_2 mit hellgelber Farbe auf. Bei der spectroskopischen Untersuchung aller Antheile des Farbstoffs bemerkte ich, was man auch an den Lösungen des Bilirubins andern Herkommens sieht, daß die Absorption zwischen F und G zunächst zur Seite von F auftritt und diffus ziemlich weit nach b vorschreitet, während noch viel indig

[1]) Durch die Güte des Herrn Collegen *J. Arnold* erhalten.

blaues und violettes Licht sichtbar bleiben. Für die CS_2-Lösung liegt das Maximum der Verdunklung etwas weiter nach *F* und gleichzeitig lassen dieselben mehr blaues Licht zwischen *F* und *G* durchscheinen.

Nach gründlicher Extraktion mit Chloroform war aus dem Präparat mit Benzol, CS_2 und Terpentinöl kein weiterer Farbstoff zu extrahiren, und da die gefärbten Extrakte nur Bilirubin und dessen Derivate enthielten, muß geschlossen werden, daß in den gelben bis gelbrothen Massen apoplectischer Heerde des Gehirns nur Gallenfarbstoffe und kein Luteïn, noch letzterem verwandte Fettpigmente auftreten.

In den Corpora lutea der Kuh habe ich dagegen keine Hämatoïdinkrystalle gefunden. Hauptsächlich in den kleinsten, intensiv gefärbten, fast zinnoberrothen Narben des Ovariums sah ich im Gewebe eingesprengt nur außerordentlich kleine, erst mit den stärksten Vergrößerungen oder zwischen gekreuzten Nicols sicher als krystallinisch zu erkennende Pigmente, im durchfallenden Lichte von reiner Orangefarbe. Alle gefärbten Extrakte der Corpora lutea in Chloroformlösungen umgewandelt, gaben auch bei öfterem Schütteln und tagelanger Einwirkung an Natronlauge nichts farbiges ab, und ebensowenig ließ Chloroform etwas Gefärbtes in den mit Alkali gemengten Fetten der Corpora lutea zurück. Hiernach bildet sich neben dem Luteïn im Ovarium der Kuh kein Bilirubin. Ob das Ovarium anderer Säuger und des Weibes sich ebenso verhalte, bleibt zu untersuchen. Für die gelben Körper der Kuh glaube ich sicher zu sein, obgleich es sich um einen negativen Befund handelt, weil das verwendete Material aus allen Arten der bekanntlich vom hellsten Strohgelb bis zum Lederbraun und Zinnoberroth wechselnden Corpora lutea gemischt war. Auch nach Behandlung des extrahirten Gewebes mit Säuren war durch Chloroform kein demselben mit Alkalien zu entziehendes Pigment zu gewinnen, wie es hätte der Fall sein müssen, wenn Verbindungen des Bilirubins im Ovarium vorkämen.

Von Herrn Collegen *Kehrer* auf die merkwürdig schwache Färbung des Fettkörpers an Stelle des entleerten, zugleich viel Blut enthaltenden Follikels im Ovarium des Schweins aufmerksam gemacht, untersuchte ich diese Corpora pseudolutea sowol auf Luteïn, als auf Bilirubin. Da weder Alkohol, noch Aether und Chloroform davon gefärbt wurden, war die Abwesenheit beider Farbstoffe gleich zu constatiren. Behandlung mit Säuren und Chloroform ergab ebenfalls kein Bilirubin. Die Abwesenheit des Luteïns gewinnt Interesse, wenn man erwägt, daß alles Schweinefett durch äußerst geringe Färbung ausgezeichnet ist. Daß im Ovarium des Schweins, entgegen unserem Befunde, gelegentlich Hämatoïdin vorkomme, scheint aus der Literatur hervorzugehen und wäre wol zu verstehen, da die Fettkörper gewöhnlich ein starkes Blutextravasat einschließen.

Ueber die Verbreitung des Guanin, besonders über sein Vorkommen in der Haut von Amphibien, Reptilien und von Petromyzon fluviatilis.

Von

A. Ewald und **C. Fr. W. Krukenberg.**

In der Haut vieler Amphibien und Reptilien finden sich neben den allgemeiner verbreiteten dunkelkörnigen oder schwarzen Pigmentzellen solche von gelber bis rother Farbe und solche, welche eine weiße silberglänzende oder kreidige Materie enthalten. Auf die letztere dieser drei Zellenarten, welche schon von *Brücke* für das Zustandekommen der verschiedenen Farbentöne der Chamäleonhaut herangezogen wurden, hat *Leydig*[1]) wiederholt aufmerksam gemacht; das gedachte weißliche Pigment wurde von ihm aber bald mit dem „Sattgelb der Flecken von Salamandra maculosa“ (Arch. f. mikr. Anat. Bd. XII. S. 177), bald mit einem eigenartigen gelbweißen Farbstoffe im Fettkörper der Arthropoden (welche, wie *Kölliker* und *Fabre* angegeben, auf einer Ablagerung harnsaurer Verbindungen beruht), bald wieder mit den bekannten „irisirenden Plättchen oder Flitterchen des Metallglanzes“ bei Fischen (welche nach *Barreswil* aus Guanin, nach *C. Voit* und *Kühne* aus Guaninkalk bestehen) verglichen.

---

[1]) *Leydig, Fr.*, Ueber die allgemeinen Bedeckungen der Amphibien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. IX. 1873. S. 774 u. Bd. XII. 1876. S. 176—179.

Aller Wahrscheinlichkeit nach sind von *Leydig* (Arch. f. Anat. u. Physiol. 1863 S. 200—202) ähnliche Gebilde ein anderes Mal auch den Proteïnkrystallen, welche *Radlkofer* in den Zellkernen von Lathraea squamosa beobachtete, und den Stearintafeln an die Seite gestellt. Schon in der Haut junger Larven von Salamandra maculosa constatirt man die Gegenwart dieser weißen silberglänzenden Zellen, und sie finden sich, entgegen der Angabe *Leydig*'s (Arch. f. mikr. Anat., Bd. XII. S. 177. Anm. 3), in noch größerer Anzahl bei erwachsenen Thieren dieser und vieler anderen Amphibien- wie Reptilienspecies vor.

Bei der großen Verbreitung derartiger Zellen in den Familien der Amphibien und Reptilien schien es uns von Wichtigkeit, an Stelle von Muthmaßungen, wie sie *Leydig* nach verschiedenen Richtungen hin geäußert, experimentell gewonnene Thatsachen zu setzen, und es konnten schon durch die mikroskopische Untersuchung einige Beobachtungen angestellt werden, die uns der Entscheidung über den Inhalt der Zellen näher brachten. Zunächst konnten wir constatiren, daß der weiße Inhalt der Zellen, der je nach der untersuchten Thierspecies bald aus kleineren, bald aus gröberen (z. B. beim Salamanderembryo) länglichen, sehr stark lichtbrechenden, nicht deutlich krystallinischen Körperchen bestand, sich bei Untersuchung zwischen gekreuzten Nicols als sehr stark doppelbrechend auswies. Diese Beobachtung erleichterte wesentlich das Auffinden derartiger Zellen hauptsächlich an solchen Stellen, welche reich an schwarzem Pigmente waren. Die Schwanzflosse junger Salamanderembryonen, in denen diese Zellen nur vereinzelt vorkommen und reiche Verästelung zeigen, sind in Canadabalsam eingeschlossen als Demonstrationsobject ganz besonders zu empfehlen; auch an den Schwimmhäuten von Fröschen, besonders von Rana temporaria, kann man sich leicht von der zelligen Natur der die doppelbrechenden Körperchen enthaltenden histologischen Elemente überzeugen. Schwieriger gelingt dies bei

solchen Thieren, bei denen die weiße Masse in großer Menge vorkommt, wie z. B. in der Haut vom Chamäleon[1]). Dann scheint bei gekreuzten Nicols das ganze Gesichtsfeld zu leuchten, und es können einzelne Zellen wenigstens auf Flächenansichten ganzer Hautstücke nicht mehr erkannt werden; doch boten gerade derartige Hautstücke willkommene Gelegenheit zur Anstellung mikrochemischer Prüfungen. Bei Behandlung mit verdünnter Natronlauge löste sich der doppelbrechende Inhalt; das gleiche trat, wenn auch langsamer ein bei Einwirkung von Salzsäure. Diese Reactionen sprachen einerseits gegen Kalk, anderseits gegen Harnsäure und erweckten sofort den Verdacht auf Guanin. Ein Stückchen Chamäleonhaut nach dem später genauer zu beschreibenden Guaninnachweise auf einem Porzellanscherben mit concentrirter Salpetersäure gelöst, zur Trockne verdampft, dann mit Natronlauge behandelt, gab sofort eine deutliche, wenn auch nicht völlig beweisende Reaction auf Guanin. Um die Thatsache vollkommen sicher zu stellen, besonders um die von *Kühne*[2]) eingehend berücksichtigten Reactionen des Guanins ausführen zu können, mußten wir den weißen Körper in größerer Menge zu gewinnen und chemisch rein darzustellen versuchen.

Wir verfuhren (mit Ausnahme zweier Fälle [Salamandra maculosa und Platydactylus guttatus *Daud.*], wo das Guanin unschwer und mit unzweifelhafter Sicherheit in der Haut durch die zu schildernden Reactionen direkt nachzuweisen war) bei

---

[1]) Die weißen Ablagerungen in der Chamäleonhaut scheinen zuerst von *H. Milne Edwards* (Ann. des scienc. nat. Sér. II. T. I. pag. 48) als „pigment superficiel blanc, jaunâtre, grisâtre“ beschrieben zu sein; ihre chemische Natur blieb aber ihm wie später auch *Brücke*, nach welchem (Sitzungsb. d. Wiener Akademie. Math.-naturw. Classe. Jahrg. 1851. S. 803) das in der Cutis der Chamäleonhaut gelegene weiße Pigment theilweise gelb, seltener orangefarben sein soll, vollkommen unbekannt.

[2]) *Kühne, W.* u. *Sewall H.*, Zur Physiologie des Sehepithels. Unters. a. d. physiol. Inst. der Univ. Heidelberg. Bd. III. 1880. S. 223—235.

unseren Untersuchungen ganz allgemein folgendermaßen: Die von dem unterliegenden Muskel-, Fett- und Knochengewebe möglichst sorgfältig gereinigten Hautstücke wurden (um auch das Bindegewebe in Trypsin verdaulich zu machen) mit Wasser einige Zeit gekocht, darauf mit neutraler oder sehr schwach alkalischer Trypsinlösung bei 40° C. solange digerirt, bis sich die verdaulichen Gewebstheile, welche die kreidige Materie einschlossen, verflüssigt hatten, und letztere als weiße Schicht im Bodensatze (meist allerdings vermischt mit schwarzem Pigment und mit unverdaulichen Horngebilden) sichtbar wurde. Schien uns der Bodensatz nur aus ziemlich reinem Guanin zu bestehen (wie z. B. beim Chamäleon), so wurde derselbe sogleich abfiltrirt, andernfalls wurde derselbe zuvor durch Schlämmen gereinigt, was leicht und ohne bedeutenderen Substanzverlust zu bewerkstelligen war, weil das Guanin sehr rasch, das schwarze Pigment und die Hornschuppen dagegen verhältnißmäßig langsam zu Boden sinken. Der Rückstand auf dem Filter wurde mit Wasser ausgewaschen, darauf mit verdünnter Salzsäure (1 : 3) gekocht, die Lösung sofort filtrirt und das Filtrat noch heiß mit Ammoniak genau neutralisirt. Enthielt das Filtrat fast reines Guanin (wie z. B. bei Chamaeleon, Scincus und Petromyzon), so bildete sich in der verdünnten Flüssigkeit nicht unmittelbar beim Neutralwerden, sondern erst nach einiger Zeit ein Niederschlag; entstand sofort ein Neutralisationspräcipitat (wie bei Elaphis, Tropidonotus, Triton etc.), so wurde dasselbe durch Filtration rasch entfernt, denn es enthielt ein solches niemals nachweisbare Mengen von Guanin. Falls in den Flüssigkeiten aber einigermaßen beträchtliche Guaninmengen zugegen waren, währte es nur wenige Stunden, bis die Krystallisation des Guanin begann, und nach 1—2 Tagen hatte sich fast alles Guanin in mehr oder weniger deutlich ausgebildeten Drusen, welche aus stark doppelbrechenden Krystallprismen bestanden, ausgeschieden. Schließlich wurde noch zur

Ausführung der Guaninreaction von diesen Ausscheidungen eine, meist höchst minimale Probe auf einem Porzellanscherben direkt mit concentrirter Salpetersäure bei Siedehitze über freiem Feuer zur Trockne verdampft oder, wenn noch eine Reinigung erwünscht erschien, zuvor erst mit verdünnter Salpetersäure (1 : 12) aufgenommen und mit dieser auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Der gelbe, aus einer Guaninverbindung bestehende Verdampfungsrückstand wurde mit einem Tropfen Natronlauge benetzt (wobei sich derselbe intensiv roth färbte), darauf mit etwa einem ccm. Wasser übergossen und mit diesem abermals zum Sieden erhitzt. Ließen wir alsdann die siedende Flüssigkeit sich über eine größere Fläche der Porzellanunterlage verbreiten, so trat, wenn von Zeit zu Zeit das Erwärmen unterbrochen, die Flüssigkeitsschicht durch Senken und Heben des Porzellans an einzelnen Stellen verdünnt und an diesen die Verdunstung durch Blasen befördert wurde, der Umschlag in Purpurroth, bisweilen auch in's Blauviolette bei geringen Guaninmengen deutlich, bei größeren in allen seinen Farbenabstufungen am schönsten hervor.

Ganz außerordentlich reich an Guanin erwiesen sich uns nach dieser Methode behandelt die Haut vom Chamäleon (Chamaeleon vulgaris), vom Frosche, von Scincus officinalis und von Petromyzon fluviatilis; nur je ein frisches (Rana esculenta) oder mehrere Jahre in Spiritus (Chamaeleon, Petromyzon) resp. trocken (Scincus) conservirtes Exemplar lieferte uns bei diesen Species eine ansehnliche Quantität sehr reinen Guanins. Etwas weniger Guanin fanden wir in der Haut von Tropidonotus natrix und einer brasilianischen Python-art; gering war die Ausbeute bei Elaphis quadrilineatus *Bonap.* und völlig negativ blieben die Befunde bei Callopeltis quadrilineatus *Pallas*, bei verschiedenen, z. Th. sehr großen Arten resp. Varietäten von Lacertiden, bei Triton cristatus, Bufo

vulgaris[1]) und beim Axolotl (Siredon pisciformis), obschon die mikroskopische Untersuchung nur in der Haut des letzteren die Zellen mit kreidigem, doppelt-lichtbrechendem Inhalte vermissen ließ. Von Triton cristatus standen uns für diese Untersuchung sieben, von Bufo vulgaris nur ein, dafür aber ein sehr großes Exemplar zur Verfügung.

In der größten Mehrzahl der Fälle erhielten wir die Guaninreaction nicht weniger rein als nach diesem Verfahren, wenn wir Hautstücke, welche besonders reich an kreidigen Einlagerungen und möglichst frei von schwarzem Pigment erschienen (wie die weißen Schuppen von Tropidonotus natrix, die weißen Hautstellen an dem conservirten Gecko [Platydactylus guttatus], Chamäleon [Chamaeleon vulgaris] und Scincus officinalis, die weiße Bauchhaut von Rana und die orangefarbige von Triton cristatus und Salamandra maculosa) direkt mit concentrirter Salpetersäure über freiem Feuer abdampften und darauf mit Natronlauge behandelten. Bei Triton gelang es uns sogar nur auf diese Weise (aber nicht weniger sicher als in den angeführten Fällen), uns von der Gegenwart des Guanins in den mikroskopisch leicht erkennbaren weißen Zellen (besonders der Bauch- und Schwanzhaut) zu überzeugen. Bei Lacerta[2]), beim Axolotl und merkwürdigerweise auch bei Callopeltis quadrilineatus *Pallas*, bei welcher Schlange in gewissen, theilweise rein weißen Schuppen an der Bauchseite das Guanin kaum fehlen

---

[1]) Bufo vulgaris soll nach *Leydig* (Arch. f. mikr. Anat. Bd. XII. S. 191—193 u. S. 238—241) auch darin von allen einheimischen Batrachiern, geschwänzten wie ungeschwänzten, abweichen, daß sich in ihrer Haut Kalkconcremente finden.

[2]) Wir dürfen bei diesem negativen Resultate vielleicht darauf hinweisen, daß sich bei den untersuchten Eidechsenarten auch das gelbe Hautpigment von den unter sich sehr ähnlichen, wenn nicht gar identischen des Wasser- und Laubfrosches, des Salamanders, Tritons und der Kröten spectroskopisch auffallend unterscheidet.

wird, gelang uns aber nach dieser vereinfachten Methode der Guaninnachweis gleichfalls nicht.

Obschon nicht bei allen Amphibien, in deren Haut wir das Guanin in reichlicher Menge antrafen, unter den Harnbestandtheilen die Harnsäure prävalirend gefunden, beim Frosch z. B. Harnsäure noch gar nicht nachgewiesen wurde, so erregten die besagten Guaninbefunde doch gerade deshalb unsere Verwunderung, weil diese Substanz in den Excreten wie Secreten sowohl bei Schlangen wie bei Urodelen und Chamäleonen stets vermisst, statt deren aber aus dem Harne dieser Thiere reichliche Harnsäuremengen gewonnen waren[1]. Wir prüften deshalb auch geeignete Hautstücke von Tropidonotus, Elaphis, Callopeltis, Lacerta, Salamandra, Triton und Rana mittelst der Murexidprobe auf Harnsäure; aber wir gelangten bei allen diesen Versuchen zu einem durchaus negativen Resultate: mit Ammoniak färbte sich der Salpetersäure-Verdampfungsrückstand niemals roth, sondern (was auch die Guaninverbindung thut) gelblich und auf Zusatz von Natronlauge niemals purpurn oder violett, sondern, wenn Guanin zugegen war, orange oder kirschroth, — und wir dürfen uns demnach für versichert halten, daß die kreidige Masse, welche die weißen Zellen der Haut erfüllt, bei allen diesen Thieren keine nachweisbare Mengen von Harnsäure einschließt.

Die von uns im Vorhergehenden ausführlicher beschriebenen Reactionen mittelst Salpetersäure und Natronlauge fallen wie

[1]) In den Excrementen vom Chamäleon fand *Prout* (*Thoms.* Ann. XV. p. 471) harnsaures Ammonium. Im Enddarmstücke unseres Chamäleons trafen wir nur unverdaute Insectenreste an, sodaß schon aus diesem Grunde (da die Fäcalmassen der Insecten bekanntlich meist viel Harnsäure enthalten) der Harnsäurenachweis hier unterbleiben durfte. Aus den Nieren dieses, zwar viele Decennien lang in Alkohol conservirt gewesenen Exemplares vermochten wir kein Guanin abszuscheiden. — Der Harn der Boa constrictor enthält nach *Prout* (*Thoms.* Ann. V. p. 413) 90, 16pCt. und der von Lacerta agilis nach *Scholz.* (*Gilbert*'s Ann. 43. S. 83) 94 pCt. Harnsäure.

E. Salkowski[1]) und *Kühne*[2]) bereits hervorgehoben haben, „beim Guanin so intensiv aus, und es bildet sich namentlich der gelbe Nitrokörper so leicht, schon bei mäßigem einmaligem Erwärmen selbst mit reiner Salpetersäure, daß keinem Geübten der Unterschied vom Xanthin und Hypoxanthin entgehen kann, obschon diese Körper im Grunde an der gleichen, freilich umständlicher erst durch wiederholtes Abdampfen mit salpetriger Säure enthaltender Salpetersäure zu erzielenden und nicht ganz so intensiv ausfallenden Reaction erkannt werden". War also schon durch das vorzügliche Gelingen dieser Reactionen hinlänglich dargethan, daß die weißen Zelleneinschlüsse in der Haut der bezeichneten Amphibien und Reptilien ebenso wie die in den Schuppen und der Retina der Fische vorwiegend oder ganz aus Guanin bestanden, so unterließen wir doch auch nicht in den Fällen, wo uns weder der Guanin- noch der Harnsäurenachweis gelungen war (wie bei Lacerta und Callopeltis), auf Hypoxanthin zu fahnden. Beim Nachweis dieses Körpers schlugen wir das allgemein gebräuchliche Verfahren ein, indem wir die ammoniakalische Lösung der Concremente mit Kupferacetat kochten; aber die schließlich erhaltenen Silberniederschläge zeigten nichts von den charakteristischen Formen des Hypoxanthinsilbernitrates, wodurch die Abwesenheit wenigstens größerer Hypoxanthinmengen in der Haut von Lacerta und Callopeltis erwiesen sein dürfte.

Die Ausdehnung unserer Versuche auf Wirbellose war von keinen positiven Erfolgen begleitet. Aus dem Rückstande der verdauten Hautdecken von 6 großen Sepia officinalis[3]), deren

---

[1]) *Salkowski, E.*, Beiträge zur Kenntniß der Leukämie. Arch. f. pathol. Anat. Bd. 50. 1870. S. 186.

[2]) *Kühne, W.* u. *Sewall, H.*, l. c. S. 225.

[3]) Die salzsaure Auskochung nahm bei Sepia durch die Chromatophorenpigmente eine schön rothe Färbung an, ließ aber spectroskopisch untersucht, keinen Absorptionsstreifen erkennen. Beim Neutralisiren fiel der Farbstoff flockig aus.

Stoffumsatz durch das Auftreten großer Harnsäuremengen (in den sog. Venenanhängen) an den der Schlangen und Urodelen erinnern könnte, war keine Spur von Guanin darzustellen; auch in der kalkreichen Haut von Bonellia viridis, in den Concretionen aus dem *Bojanus*'schen Organe von Pinna squamosa, von denen etwa 20 gr. zur Untersuchung verwendet wurden, vermissten wir das Guanin vollständig. Ebenso erfolglos verliefen auch dieses Mal unsere Untersuchungen, welche wir an den Flügeln von 6 großen Saturnia Pernyi und von 5 Attacus Mylitta ausführten. Bei der Inarbeitnahme mehrerer Hautstücke von Cucumaria Planci zum gleichen Zwecke überzeugten wir uns auch an dieser Holothurienart wie vortreffliche Dienste die Verdauungsmethode bei der Isolirung der kalkigen Concremente in der Echinodermenhaut zu leisten vermag.

Da die eventuell an Guanin gebundene Kalkmenge wegen des großen Molekulargewichtes jener Substanz nur eine geringe ist, und nach dem Verdauen der Hautstücke Kalksalze anderer Herkunft (aus den Schuppen, den Sehnen oder aus den, an der Haut festsitzenden Knöchelchen stammend) dem guaninhaltigen Bodensatze oft in ganz ersichtlicher Weise einfach beigemengt waren, so nahmen wir meist Abstand zu untersuchen, ob in der Haut Guanin oder Guaninkalk vorhanden sei. Nur an dem direkt durch Verdauen ziemlich rein erhaltenen Präparate aus der Chamäleonenhaut haben wir eine diesbezügliche genauere Prüfung vorgenommen. Der Verdauungsrückstand wurde dabei auf einem Objectträger verascht, die Asche mit starker Schwefelsäure längere Zeit stehen gelassen und alsdann mikroskopisch auf Gypskrystalle geprüft. Diese sehr empfindliche Methode lieferte ein völlig negatives Resultat, und es wird daraus geschlossen werden müssen, daß wenigstens in der Haut des Chamäleons das Guanin als solches und nicht als Guaninkalk präformirt vorkommt.

Als das Gesammtresultat unserer Untersuchungen dürfen wir

den Nachweis geliefert erachten, daß das Guanin nicht nur in der Haut gewisser Knochenfische[1]), sondern ebenso reichlich auch in der äußern Körperbekleidung bei einigen Species der Cyclostomen, Schlangen, Urodelen und Anuren auftritt; es wurde von uns nachgewiesen in der Haut von Petromyzon fluviatilis, Tropidonotus natrix, Python, Elaphis quadrilineatus *Bonaparte*, Chamaeleon vulgaris, Platydactylus guttatus, Scincus officinalis *Laur.*, Triton cristatus, Salamandra maculosa und von Rana; der Nachweis mislang uns dagegen bei Callopeltis quadrilineatus *Pallas*, Lacerta, Bufo vulgaris und bei Siredon pisciformis, obschon es, wie die mikroskopischen Befunde wahrscheinlich machen, unter diesen nur beim Axolotl vollständig fehlen wird. In der Haut und den Federn der Vögel gab sich uns bislang von Guanin ebensowenig etwas zu erkennen als in den Körperbedeckungen der wirbellosen Thiere[2]).

---

[1]) Mit der an der Bauchseite weißen, an der Rückenfläche braun gefleckten Haut von Torpedo marmorata gelang uns weder der direkte (chemische und mikroskopische) Nachweis des Guanin, noch vermochten wir aus der Haut das Guanin in Substanz abzuscheiden.

[2]) Nachdem das Guanin 1845 von *Bodo Unger* (*Poggend. Ann.* Bd. 65. S. 222, Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 51. S. 395) im Guano aufgefunden und von ihm gleichfalls festgestellt war, daß es reichlich im peruanischen, sparsam im afrikanischen Guano auftritt, wurde es weiterhin im Pankreas von *Scherer* (Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 112. S. 257), in den Schuppen des Alburnus lucidus von *Barreswil* (Compt. rend. T. 53. p. 246), in der Schwimmblase der Argentina Sphyraena von *C. Voit* (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 15. S. 515), in den Excrementen von Ardea cinerea (*E. Hærter* in *Hoppe-Seyler*'s Medic.-chem. Untersuchungen. 1871. S. 584), verschiedener Skorpione (cf. *Krukenberg* in Unters. a. d. physiol. Inst. d. Univ. Heidelberg. Bd. IV. 1881. S. 42. Anm. 1) und Arachniden (*E. Gorup-Besanez* u. *Fr. Will* in Ann. d. Chem. u. Pharmac. Bd. 69. 1849. S. 117, *F. Plateau*, Rech. sur la struct. de l'app. dig. chez les Aranéides dipneumones. Bruxelles. 1877. p. 134), in der Retina von Abramis brama und verschiedener Selachier (*Kühne* u. *Sewall*, l. c.) nachgewiesen; auch findet sich Guanin in den Nieren bei Octopus vulgaris (*Fredericq* in Bull. de l'acad. r. de Belgique. Sér. II. T. 46. 1878. p. 744). Ob die weißen Concretionen, welche *Virchow* (Arch.

f. path. Anat. Bd. 35. 1866. S. 358) im Schweinefleisch beobachtete, thatsächlich aus Guanin oder aus einem Xanthinkörper (vielleicht Hypoxanthin) bestanden, haben die Untersuchungen unentschieden gelassen. Das Vorkommen des Guanin wurde fernerhin noch vermuthet, aber nicht exact bewiesen in den Mesenterialfilamenten der Actinien (*V. Carus*, System d. vergl. Morphologie. 1853. S. 148), in der milchweißen Platte unter der sog. Leber bei Porpita (*Kölliker*, Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. IV. S. 368), in den sog. Mastdarmblindsäcken bei Asteracanthion rubens und Solaster papposus, in den *Cuvier*'schen Organen von Holothuria pentactes und Cucumaria frondosa (*Carus*, l. c.), in den Concrementen aus dem Canalsysteme von Distomum hystrix (*Lieberkühn*, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1852. S. 561), in den Concretionen aus dem *Bojanus*'schen Organe von Anodonta cygnea und als Inhalt der grünen Drüse bei Astacus fluviatilis (*Gorup-Besanez* u. *Will*, l. c., S. 120); auch im Inhalte des Wassergefäßsystems von Taenia sollen sich nach *Ferd. Sommer* (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 24. 1874. S. 515) dem Xanthin oder dem Guanin sehr nahe stehende Substanzen finden. Die Ansicht *Leydig*'s (Arch. f. mikr. Anat. Bd. XII. S. 537—538), es möchte die weißkörnige Substanz, welche in der „zelligen Lage unter der Cuticula“ (matrix *Leydig*'s, Hypodermis anderer Autoren) der Spiegelflecke auf den Flügeln von Saturnia Pernyi vorkommt, Guanin sein, haben wir, wie gesagt, nicht bewahrheitet gefunden.

Nachtrag.

Nach Abschluß unserer Arbeit erhielten wir durch die Güte des Herrn Prof. *Bütschli* noch eine Anzahl von Reptilien und Amphibien, wodurch wir unsere Beobachtungen vervollständigen konnten. Wir sahen dabei ab von einer Reindarstellung des Guanins durch die Verdauungsmethode, da wir fanden, daß sich durch die direkte Behandlung der Hautstücke mit Salpetersäure der Guaninnachweis mit völliger Sicherheit liefern läßt, wenn man nur mit der nöthigen Vorsicht verfährt. Die Hautstücke, meist etwa 2—3 qcm. werden mit concentrirter Salpetersäure auf einer Porzellanscherbe ganz langsam erwärmt, bis die weißen kreidigen Stellen durchsichtig werden. Die Hautstücke müssen aus der Salpetersäure genommen werden noch ehe sie sich mit derselben stark gelb färben. Wurde dann unter Kochen die Salpetersäure zur Trockne verdampft und die Probe mit Natronlauge angestellt, so fiel bei Gegenwart von Guanin die Farbenreaction immer vollkommen rein aus. Neben der chemischen Untersuchung wurde immer auch die mikroskopische Prüfung vorgenommen. Es gelang uns so das Guanin mit Sicherheit noch bei einigen Schlangen: Coluber Aesculapii, Platyurus fasciatus und Leptophis liocercus nachzuweisen; hauptsächlich die letztere war ungemein reich an Guanin. Bei einer andern Schlange, Elaps corallinus, dagegen war weder mikroskopisch noch chemisch die geringste Spur von Guanin zu finden. Sehr reich an Guanin war eine Phrynosoma-art und der gemeine Gekko (Platydactylus murorum). Bei erneuter Prüfung gelang es uns jetzt auch bei Kröten, sowol bei Bufo calamita als Bufo vulgaris den Guaningehalt der Haut sicher zu stellen. Ebenso

ergab Lacerta agilis eine schwache aber vollkommen deutliche Guaninreaction. Bei der Blindschleiche (Anguis fragilis) ließ die mikroskopische Untersuchung auf Guanin schließen und auch die chemische Prüfung machte die Anwesenheit desselben wahrscheinlich; bei dem Scheltopusik (Pseudopus Pallasii) gelang der Nachweis nicht. In der Haut des Leguans (Iguana tuberculata) konnten wir mikroskopisch keine Guaninzellen erkennen, auch bei chemischer Prüfung glückte uns zuerst der Nachweis nicht; als wir aber eine größere Hautportion, etwa 20 □cm, in Arbeit nahmen, erhielten wir eine vollkommen deutliche Reaction. Es wurde deshalb nochmals die Haut des Axolotl, bei welchem unsre früheren Versuche ein vollkommen negatives Resultat ergeben hatten, einer Prüfung unterzogen. Obgleich etwa der vierte Theil der Haut eines ganzen Thieres verbraucht wurde, gab die Reaction höchstens eine leichte Rothfärbung; das Vorkommen von Guanin ist zweifelhaft. Möglicherweise könnten Spuren vorhanden sein. Vollkommen negativ fiel das Resultat bei der Haut der Muraene aus.

Ueber chemische Reizungen.

Nach Versuchen von stud. med. **Curt Jani**
mitgetheilt von
W. Kühne.

Bekanntlich hat *E. Hering* nachgewiesen, daß die meisten Erregungen des Muskels durch Berührung seines Querschnittes mit Flüssigkeiten auf electrischer Reizung beruhen, erzeugt durch Herstellung eines Kreises für den Muskelstrom. Die erfolgende Zuckung kann allerdings doppelten, sowol chemischen als electrischen Ursprunges sein, aber der Nachweis des ersteren Antheiles wäre schwierig und ist es noch bei Erfolgen an stromlosen Muskeln ohne Querschnitt, weil die erregenden Flüssigkeiten erst stromerweckend und dann wiederum als Nebenschließungen zum Demarcationsstrome wirken könnten. Bei dieser Sachlage haben unter den chemischen Reizmitteln die Gase neues Interesse gewonnen, besonders das durch seine kräftige Wirkung auf den Muskel ausgezeichnete Ammoniak. Die Zahl derartiger Muskelreize zu vermehren, war die erste Aufgabe der folgenden Versuche.

Es wurden viele Gase gefunden, welche den M. sartorius des Frosches erregen; zu diesen zählen: Chlor, Brom, Untersalpetersäure, Salzsäure, schweflige Säure, Kohlensäure, Essigsäure, Aldehyd, Aceton, Aether, Chloroform, Kohlenstofftetrachlorid, Schwefelkohlenstoff. Nicht erregt wurde der Muskel durch: Schwefelwasserstoff, Benzol, Kreosot, Petroläther, Anilin, Terpentin, Furfurol.

Zur Einwirkung der Gase und Dämpfe wurde der an seiner unteren Sehne in bekannter Weise fixirte, hängende M. sartorius

rasch in Bechergläschen getaucht, die entweder vorher mit den Gasen gefüllt waren, oder am Boden verdampfende und Gase entwickelnde Flüssigkeiten enthielten. Cl, Br, SO_2 dunsteten aus gesättigten wässrigen Lösungen ab, NO_2 aus schwach rauchender Salpetersäure, HCl aus mäßig rauchender Säure; $C_2H_4O_2$ wurde als Eisessig verwendet, C_2H_4O unter Zusatz von Kalkhydrat. Mit einer Ausnahme (bei CO_2) ergaben die Versuche gleiche Resultate bei curarisirten und unvergifteten Muskeln, gleichviel ob mit größter Schonung unverletzt präparirt, oder mit einem Querschnitte versehen.

A. Kürzeste Einwirkung, wobei der Muskel, indem das Gläschen gleich wieder fortgezogen wurde, nur einen Augenblick mit dem Gase in Berührung kam.

1. Einfache Zuckung mit sofort folgender Erschlaffung erzeugten: NO_2, SO_2, HCl, $C_2H_4O_2$, Br, CS_2, CCl_4. Bei NO_2 und Br drehte sich der Muskel spiralig um seine Längsaxe; bei CCl_4 bog er sich um eine Kante und rollte sich etwas auf. Nach wieder eingetretener Verlängerung äußerte sich eine Nachwirkung durch zahlreiche klonische Zuckungen ohne anhaltende Verkürzung, am stärksten nach HCl, SO_2 und Br, weniger nach $C_2H_4O_2$, am geringsten nach NO_2.

2. Eine starke Zuckung mit spiraliger Drehung, die sogleich in Contraktur überging, erfolgte durch CCl_3H, C_3H_6O, $C_4H_{10}O$ und Cl, bei letzterem am längsten anhaltend.

3. Eine starke aber langsame Contraktion, erst spät in Verlängerung übergehend, erzeugte C_2H_4O.

Die Versuche waren sämmtlich mit demselben Erfolge einige Male zu wiederholen, nur vergrößerte sich bei einigen Gasen die Latenzzeit und die Contraktion hielt länger an. So war es bei CCl_3H und $C_4H_{10}O$, mehr noch bei HCl, am meisten bei Cl, das dann nur geringe Verkürzung erzeugte.

B. Längere Einwirkung der Gase.

1. Nach Vollendung der beschriebenen Zuckungen geht der Muskel in Contraktur über, verliert die Erregbarkeit für stärkste electrische Reizung und erstarrt: vor Ablauf von 15 Sec. durch Cl und CCl_3H, nach mehr als 20 Sec. durch HCl und $C_4H_{10}O$, nach 30 Sec. durch $C_2H_4O_2$.

2. Der Muskel geht sofort in Contraktur über, zuweilen unterbrochen durch stoßende Zuckungen, unter Einwirkung von CCl_4 und NO_2. Vollkommenes Absterben erfolgt in NO_2 nach 15 Sec., in CCl_4 etwas später.

3. Der Muskel zeigt zitternde Bewegungen, darauf langsamen Uebergang in Contraktur, endlich Umwandlung zu einem weißen erstarrten Bande, durch Einwirkung von CS_2 und SO_2. In beiden verschwindet die Contraktion zunächst nach etwa 2—2½ Min., ohne totalen Erregbarkeitsverlust zu hinterlassen.

4. Klonische Zuckungen ohne Contraktur ruft $C_2H_4O_2$ hervor; dieselben verschwinden nach 30 Sec., worauf noch Zuckungen durch electrischen Reiz entstehen.

5. CO_2 wirkt nur bei etwas längerer Einwirkung (7 Sec.) und erzeugt starke fibrilläre Zuckungen, ohne daß es zu einer Gesammtverkürzung käme. Nur am curarisirten Muskel wurde deutliche zuckende Verkürzung in Folge raschen Eintauchens in das Gas bemerkt. Die fibrillären Zuckungen dauerten ½—1 Min.

Die schon genannten nicht erregenden Mittel flüssig angewendet, vernichteten z. Th. die Erregbarkeit rasch, so Furfurol, Anilin, Terpentinöl, sehr viel langsamer Petroläther. Rasches tieferes Eintauchen in flüssiges Benzol oder Kreosot erzeugte einige Male Zuckung.

Während SH_2-Gas den Muskel in ½—1 Min. tödtete, blieb die Erregbarkeit in den übrigen nicht erregenden Gasen sehr lange erhalten.

Von keinem der auf die genannte Weise erregten Muskeln

gelang es secundäre Zuckung eines mit dem Nerven angelegten Froschschenkels zu erhalten, obgleich dieselbe viele Male vor und nach der Gaswirkung auf Anlegung eines Querschnittes an den Sartorius eintraf.

Verhalten motorischer Nerven zu den die Muskeln erregenden Gasen.

Von sämmtlichen vorher genannten Gasen wirkt nur CS_2 und nicht einmal constant erregend auf den N. ischiadicus des Frosches. Der Schenkel geräth in Zittern und fibrilläre Zuckungen, die aber auch beim Eintauchen des Nerven in die Flüssigkeit nicht in Tetanus übergehen. Die Zuckungen halten lange an und erhebliche Aenderungen der Nervenerregbarkeit sind selbst nach 2 Min. noch nicht zu constatiren. Dagegen wurde der Nerv 16 Sec. nach dem Eintauchen in flüssigen CS_2 unerregbar gefunden.

Verlust der Nervenerregbarkeit in den Gasen wurde gefunden; nach 5—15 Sec. durch HCl und NO_2, nach etwas mehr als 15 Sec. durch CCl_3H, C_2H_4O, $C_4H_{10}O$, nach 20 Sec. durch $C_2H_4O_2$; durch SO_2, Cl, CCl_4 noch nicht nach 30 Sec., nach 2 Min. durch Br, Terpentinöl und Petroläther; während der Nerv in die beiden letzteren eingetaucht nach etwas mehr als 1 Min. unerregbar wurde, hielt er sich in gesättigtem Bromwasser so lange (2 Min.) wie in dem darüber stehenden Gase.

Im Ganzen machen die Resultate den Eindruck, als habe es sich nur um chemische Reizungen gehandelt, und dies dürfte für diejenigen Gase, welche von den die Muskel oder dessen Fasern umgebenden minimalen Flüssigkeitsmengen aufgenommen, deren electrischen Leitungswiderstand nicht ändern oder vermindern, auch allgemein acceptirt werden. Bei anderen Gasen, den

Säuren namentlich, ist jedoch eine Wirkung gleich derjenigen von Flüssigkeiten mit geringem Widerstande nicht auszuschließen und um so mehr zu beachten, als die meisten auch zum Auftreten von Demarcationsströmen Anlaß geben werden. Indeß, wenn man die Frage auf die Spitze treibt, wird schließlich überhaupt kaum etwas anderes übrig bleiben, als jeglicher chemischen Veränderung in irritablen Maßen in erster Instanz electrische Erfolge zuzuschreiben und alle physiologische Reaction als weitere Folge der electrischen Veränderung aufzufassen. Immer wird es dann aber bemerkenswerth bleiben, daß Nerven, die wir bezüglich des Hervortretens neuer electrischer Eigenschaften nicht weniger empfindlich gegen chemische Einflüsse wissen, als Muskeln, auf eine große, hier wieder vermehrte Zahl solcher Einflüsse, nicht mit Erregung reagiren, wie das Gewebe, das darauf mit Contraktion antwortet.

Wie es scheint ist der Muskel, besonders der quergestreifte nicht immer das beste, geschweige das einzige Mittel zur Erkennung des Erregungszustandes im Nerven, wenigstens nicht aller Arten von Nervenerregung: es stehen zu dem Zwecke noch die glatten Muskeln, der Herzmuskel, vor allem die Ganglienzelle und die subjective Empfindung bereit, welche sämmtlich vielfach in dieser Hinsicht schon benutzt sind. Die folgenden Versuche haben sich einestheils an die Ganglien des Rückenmarks, deren Reaction auf Nervenerregung durch Reflexbewegung erkannt werden sollte, gewendet, anderntheils unter Beibehaltung dieser Bewegung als letzten Erkennungszeichens der Erregung, die sensiblen Nerven zum ersten Erregungsobjecte genommen.

An den größeren sensiblen Stämmen zu experimentiren ist mißlich wegen der bekannten Inconstanz oder häufig vollkommenen Erfolglosigkeit selbst solcher Reize, welche am motorischen Stamme nie im Stiche lassen und es wurde deshalb versucht, die Eigenthümlichkeiten der sensiblen Endorgane auszuschließen, oder ihre Mitwirkung zu controliren durch Reizung der sensiblen Fäserchen

unter der Haut, nachdem vorher dieselben Reize an der äußeren Hautfläche probirt waren. Ob man damit zum Ziele gelange, können nur die Resultate selber sagen, da der enthäutete Schenkel im Bindegewebe der Sehnen, Fascien und Gelenke immer noch eine Anzahl Endorgane besitzt, die vielleicht als Aufnahmestellen des Reizes mehr Bedeutung haben, als die zwischen den inneren Theilen und der Haut abgerissenen Nervenfasern.

Chemische Reizversuche an der Froschhaut.

1. Durch Einhängen eines Beines des oberhalb der Medulla oblongata geköpften, am Unterkiefer aufgehängten Frosches in Cl, Br, C_2H_4O, NO_2 auch der Dämpfe von Senföl beobachtet man nach anfänglicher starker Zuckung eine lange Reihe von Wischbewegungen, nach deren Beendigung das Bein oft angezogen bleibt. Die Reflexbewegung dehnt sich auf das andere Bein aus. Bei C_2H_4O erfolgt die erste Bewegung nach 1—2 Sec., bei den übrigen Gasen nach etwa 2 Sec. Bringt man die Dämpfe in Berührung mit der oberen Extremität, so findet dort nach Ablauf derselben Zeit die Bewegung statt und pflanzt sich bei längerer Einwirkung der Gase auch auf die untere Extremität, zuweilen auch der andern Seite fort und zwar nach der Reizung mit Senföl in 3 Sec., mit NO_2 etwas später, mit Cl nach 6—7 Sec., mit C_2H_4O nach 12 Sec.

2. Ebenso, aber nicht constant Reflexe auf der andern Seite veranlassend, wirkten: HCl, $C_2H_4O_2$, C_3H_6O. Das Latenzstadium betrug 3 Sec. Die Uebertragung von der oberen auf die untere Extremität dauerte bei HCl und $C_2H_4O_2$ 5—6 Sec., bei C_3H_6O 12 Sec.

3. Reflexe, ebenfalls in einer ersten Anziehung des Beines mit folgenden Wischbewegungen bestehend, aber nur auf der gereizten Seite, wurden erzielt durch: CS_2, CCl_3H, $C_4H_{10}O$, SO_2 und CO_2. Das Latenzstadium betrug 5 Sec. Die Fortpflanzung von der oberen auf die untere Extremität erfolgte bei CCl_3H in

7—10 Sec., bei $C_4H_{10}O$ in 10 Sec., bei CS_2 erst in 30 Sec., in letzteren Fällen waren die Bewegungen des Beines sehr unbedeutend.

4. Dämpfe von Alkohol, Amylalkohol, Kohlenstofftetrachlorid und (reinem) Bittermandelöl erzeugten nur zitternde Bewegungen des Beines, das auch nie aus dem Glase hervorgezogen wurde. Die Latenz betrug beim Alkohol 5 Sec., bei den andern Stoffen 8—10—12 Sec.

Noch schwächer war die Reaction auf Dämpfe von Benzol, Kreosot, Anilin, wo sie auch erst nach 10—20 Sec. eintrat, zweifelhaft endlich bei CCl_2 und Terpentindämpfen. Vollends wurde bei dieser Gruppe die Wirkung von oben nach unten schwach, inconstant oder erfolgte sehr spät.

Im Anschlusse hieran wurden einige auf die Zunge kräftig wirkende Flüssigkeiten an der Froschhaut versucht und es ergab sich völlige Wirkungslosigkeit: sehr concentrirter Lösungen von Rohrzucker und Traubenzucker, Salicin, unerträglich bitterer Lösungen von Chininsulfat und Chininchlorhydrat, sowie einer 4procentigen Lösung von Tannin. Dagegen erzeugten concentrirtes Glycerin und Alaun von 4 pCt. nach etwa 10 Sec. mäßigen gleichseitigen Reflex.

Chemische Reizung des enthäuteten Beins.

Die Versuche wurden so angestellt, daß nach Abstreifung der gesammten Hautbedeckung, die Vorderpfoten völlig, von den Hinterpfoten nur die Phalangen abgeschnitten wurden, weil sich von diesen Theilen die Haut nur unvollkommen löst. Die Empfindlichkeit solcher theilweise noch behäuteter Zehen für Druck und electrischen Reiz gegenüber ganz enthäuteten ist sehr groß. Für chemische Reizungen sorgfältig enthäuteter Extremitäten ist hochgradige Reflexerregbarkeit erforderlich.

Wurde der Frosch mit beiden Beinen in Dämpfe von NH_3 $C_2H_4O_2$ und HCl gehängt, so erfolgte reflectorische Anziehung

der Beine; einseitige Reizung erzeugte nur einseitigen Reflex. Da die Bewegungen rasch und geordnet waren, konnten sie nicht auf direkter Muskelreizung beruhen; außerdem gaben Controlversuche mit durchschnittenem N. ischiadicus ein negatives Resultat. NaCl in concentrirter Lösung mit der hautlosen Sohle in Berührung gebracht gab reflectorische Krämpfe des Unterschenkels ohne Ausbreitung auf den Oberschenkel oder auf das andere Bein. Weniger constant wirkte Eintauchen eines oder beider Unterschenkel in sehr verdünnte H_2SO_4 oder NaOH. Ganz unwirksam waren Br, NO_2, CO_2, CS_2, Senföl, concentrirtes Glycerin und Alaunlösung von 4 pCt.

Vom herauspräparirten und durchschnittenen N. ischiadicus aus erzeugte nur NaCl Reflexe (im anderen Beine); alle übrigen Mittel, selbst concentrirtes Glycerin ließen völlig im Stich, was sich vielleicht aus der stets einseitigen und auf die gereizte Extremität beschränkt bleibenden Reflexwirkung, welche nach Entfernung der Haut beobachtet wurde, erklärt.

Hält man unsere Beobachtungen am enthäuteten Schenkel mit den jetzigen und den älteren Erfahrungen über chemische Reizbarkeit motorischer Nervenstämme zusammen, so erscheint die sensible präterminale Ausbreitung fast so indolent gegen Erregung durch chemische Mittel, wie die Nervenfaser im Allgemeinen und hinsichtlich dieser Erregbarkeit dem Muskel und der Haut weit nachstehend. Andrerseits bezeugen die Reflexe durch gewisse Dämpfe (NH_3, $C_2H_4O_2$, HCl) einen kleinen Unterschied zu Gunsten der unter der Haut befindlichen Nerven, welcher, abgesehen von der Möglichkeit wirklicher Differenzen zwischen sensiblen und motorischen Fasern, bedingt sein kann von der geeigneteren Beschaffenheit des gangliösen Signalapparats, worauf die sensiblen Fasern zu wirken haben, oder von der Betheiligung besonderer Endorgane, die unser Object noch in den Sehnen, Fascien und Gelenken enthielt.

Ueber secundäre Wirkung vom Herzen auf Muskeln.

Von

Dr. **R. J. Anderson** aus Belfast.

Um die Erregung eines Muskels durch das schlagende Herz zu zeigen, habe ich außer den Herzen des Kaninchens, des Frosches und der Schildkröte, von welchen Professor *Kühne* die secundäre Wirkung auf den angelegten M. sartorius des Frosches erhalten hatte, die Herzen einiger andrer Thiere geprüft und dem Experimente eine Form zu geben versucht, welche möglichste scharfe und anhaltende Beobachtungen gestattete. Unter den leicht zu erreichenden Thierherzen fand ich das der Kröte (Bufo vulgaris) geeigneter, als das des Frosches und fast so wirksam, wie das Schildkrötenherz, noch besser das Säugethierherz (vom Kaninchen), wenn es nach dem Herausnehmen länger schlagend erhalten wurde.

Die vom Krötenherzen zu beschreibenden Versuche gelingen auch am Froschherzen und sowol mit curarisirten, wie mit unvergifteten Muskeln; vom Krötenherzen waren die Wirkungen nur häufiger und der curarisirte Sartorius pflegte kräftiger zu zucken. Von jeder Stelle des Herzens war der Muskel zum Zucken zu bringen, sowol vom Ventrikel, als von den Vorhöfen, auch nach der Trennung dieser von einander; die Wirkung der letzteren war jedoch seltener und schwächer. Der Muskel reagirt am besten bei direkter Berührung, vielfach gelang es aber auch die Wirkung durch unpolarisirbare, auf zwei Punkte des Herzens gesetzte Electroden zu übertragen, indem man die metallischen

Enden der Leitung mit einer 2—4 mm langen Muskelstrecke überbrückte.

Da der direkt angelegte, an einem Ende befestigte, hängende Sartorius durch das schlagende Herz passiv mitbewegt wird, ist die secundäre Zuckung nur durch die Art der Bewegung und durch das Eintreten vor der Formänderung des Herzens zu erkennen. Ueber beides können unter Umständen Zweifel entstehen: die vorangehende Systole der Vorhöfe kann das ganze Herz verschieben oder ausdehnen, wenn sie Blut in den Ventrikel treibt und der Muskel kann zur Zeit der Ventrikelsystole so gehoben werden, daß er sich zu falten oder zu krümmen beginnt, wie er es mit aufliegendem Ende auch thut nach Ablauf einer Zuckung. Ist die secundäre Zuckung kräftig, so entstehen zwar solche Zweifel nicht, schon weil der Muskel nicht selten emporschnellt und sich ganz vom Herzen loslöst, oder weil seine Verdickung und Verkürzung von anderen Bewegungen unmittelbar zu unterscheiden sind; dagegen werden schwächere Zuckungen leicht übersehen. Ein brauchbares Verfahren, diese Zuckungen zu erkennen, bestand darin, das Herz auf eine horizontal vorstehende Papierzunge zu legen, deren Spitze sich nach abwärts bog, wenn der Ventrikel sich im Schlage verdickte und gegen den darüber fixirten M. sartorius stemmte. Am Kymographion schrieb die Papierspitze jede Systole als Curve unter die Abscisse, unmittelbar vor jeder Curve aber eine Erhebung über die Abscisse, falls der Muskel präsystolisch gezuckt und das Herz, an dem sein unteres Ende klebte, sammt dem adhärirenden Papierstreifen emporgehoben hatte. Ein anderes Mittel die secundäre Wirkung gut sichtbar zu machen, bestand in der Erregung tertiärer Zuckung eines Froschschenkels, dessen Nerv in einiger Entfernung vom Herzen schräg über die fascienfreie Fläche des Sartorius gelegt war. Das Verfahren schlug zwar nur bei kräftigeren secundären Zuckungen an, war aber sehr bequem für Versuche am Säugethierherzen im Leben, wo

man den Sartorius tief in den eröffneten Thorax senken muß, und die respiratorischen Bewegungen, das Auf- und Abgehen der Lungen, sowie das Schleudern des Herzens nach Eröffnung des Pericardiums der Beobachtung hinderlich sind.

Obgleich die secundären Zuckungen vom schlagenden Kaninchenherzen während künstlicher Respiration fast maximal scheinen, und etwa so lange anhalten, als der Muskel von der Erwärmung und Befeuchtung nicht leidet, wollte es nicht gelingen die electrische Wirkung durch unpolarisirbare Electroden nach außen zu übertragen. Weder beim Kaninchen noch beim Hunde war mittelst der Leitungsdrähte ein M. sartorius zu erregen, selten sogar ein hoch erregbarer N. ischiadicus, auf welche Stellen des Herzens die Thonspitzen aufgesetzt sein mochten. Ebenso erfolglos war das Anlegen einer Electrode auf die verschiedensten Punkte der Herzoberfläche, während die andere in Gestalt einer langen, mit Ausnahme des amalgamirten Endes, lackirten Zinkstange von der Art. carotis her, nach Forcirung der Aortenklappen in's Innere des Herzens gesteckt war. Wie es scheint sind die Nebenschließungen durch die Brusteingeweide das Hinderniß, gegen das indeß auch das Aufbetten des Herzens auf Kautschukstreifen nicht half.

Die secundäre Wirkung auf einen andern Muskel lehrt, daß die Herzmuskulatur entweder durch besonders kräftige Actionsströme oder durch electrische Vorgänge ausgezeichnet ist, deren zeitlicher Verlauf geeigneter zu direkter Muskelreizung ist, als die des gestreiften Muskelgewebes im Allgemeinen. Man konnte daran denken, daß diese Ströme im Stande seien, eine ganze Reihe physiologischer Effecte auszuüben, die von andern Muskeln niemals erhalten sind, z. B. Erregungen größerer entnervter Muskeln, oder eines andern Herzens, unter Umständen benachbarter Theile desselben Herzens und vielleicht von Sinnesnerven, auch des Menschen. Einen Versuch, der Professor *Kühne* einmal

mit dem Herzen des Hundes[1]), öfter an dem des Huhns geglückt war, nämlich dem am Myographien befestigten curarisirten Froschgastrocnemius die Actionsströme des soeben ausgeschnittenen Herzens durch Knochen und Sehne zuzuleiten und den Muskel zum Zucken zu bringen, habe ich mehrere Male erfolglos wiederholt. Das rasch isolirte Herz wurde in einem Rahmen fixirt, im Innern mit einer bis zur Spitze des linken Ventrikels reichenden, außen mit einer nahe der Atrioventiculargrenze fest angelegten unpolarisirbaren Electrode versehen, während die stürmischen Pulsationen mit Hülfe von zwei Luftkapseln unter dem Muskelschreiber verzeichnet wurden. Der Mißerfolg von 4 so ausgeführten Versuchen war vermuthlich dem Umstande zuzuschreiben, daß trotz aller Eile die Pulsationen schon zu abnorm geworden waren in dem Augenblicke, wo die Ableitung beginnen konnte.

Um solchen Experimenten am isolirten Säugerherzen die Wege zu ebenen, wurde ein neues, von Professor *Kühne* schon mit Erfolg begonnenes Verfahren eingeschlagen, die Schlagfähigkeit länger zu erhalten. Wenn man während künstlicher Respiration alle Verbindungen des Herzens mit dem Thierleibe schließt und nur die mit der Lunge offen erhält, so kann man das Herz an der Trachea mit den Lungen aus der Brust nehmen, seinem Blute Sauerstoff nach Bedarf zuführen und die CO_2 nehmen, während dasselbe so lange in Bewegung bleibt und in sich selbst zurückkehrt, als die Herzschläge dauern. Die Ausführung war folgende: man leitete zuerst künstliche Respiration ein, öffnete den Thorax durch Spalten des Brustbeins, unterband der Reihe nach die Vena

[1]) Ich bewahre eine Zeichnung auf von 26 durch die ersten raschen Pulsationen in nicht ganz 5 Sec. hervorgebrachten secundären Gastrocnemiuszuckungen, von etwa 2 mm Hubhöhe (bei 5 gr. Belastung), zu deren Wiederholung durch Inductionsöffnungsschläge es unmittelbar darauf, unter genau gleich gebliebenen Bedingungen einer Annäherung der Inductionsrollen bedurfte, hinreichend um an der Zunge und selbst am gut befeuchteten Finger deutliche Empfindung zu erzeugen. *W. K.*

cava sup. sin., die Vena cava inf., die Art. aorta, endlich die Vena cava sup. dextr. und hob darauf das ganze Packet mit der Trachea aus dem Thorax. Das Präparat stellt eine Reduction des gesammten Blutkreislaufsapparats dar, in welcher der sog. Lungenkreis ungeschmälert erhalten, das System des Körperkreislaufes auf das der Coronargefäße reducirt ist. Das zwischen beiden Hälften bestehende Mißverhältniß kann für gewisse Zwecke gemildert werden durch Unterbindung von Zweigen der Lungenarterie, oder durch starke Reduction der Lungen, indem man diese stückweise abbindet. Für die vorliegende Aufgabe war davon Umgang zu nehmen, denn das Herz schlug vortrefflich weiter, falls die Blutfülle nur einigermaßen richtig getroffen, nicht zu groß und namentlich nicht zu klein war. Der Moment der letzten Venenunterbindung ist dafür entscheidend, aber es ist vorzuziehen, das Herz sich erst übermäßig füllen zu lassen und später aus einem Lungenarterienaste nach Bedürfniß Blut zu entziehen. Um das Thierstück am Leben zu erhalten wird die Respiration fortgesetzt, Verdunstung durch Schwimmenlassen auf $^1/_2$ procentiger NaCl-Lösung oder Einbringen in eine feuchte Kammer und die Abkühlung durch künstliches Erwärmen verhindert.

Wie lange und in welcher Weise das Herz fortzuschlagen vermöge, wird durch eingehende Untersuchungen noch festzustellen sein; ich habe es zur Erhaltung des Spieles am vortheilhaftesten gefunden, die Respiration nicht zu frequent und ergiebig zu machen, dieselbe von Zeit zu Zeit, 5—10 Min. zu unterbrechen und das Präparat inzwischen aus dem warmen Salzwasser, dessen Temperatur im Mittel 37° C. betrug und von 35—40° C. schwankte, herauszunehmen. Je nach der Vollkommenheit der vorangegangenen Lüftung schlug das Herz weiter, entweder weil der in's Blut gelangte Sauerstoff nur langsam verbraucht wurde, oder weil noch von dem Vorrathe in der Lunge gezehrt wurde.

Man empfängt daneben den Eindruck, als ob die große pleurale Oberfläche der Lunge den Gaswechsel ohne Aufblasen geraume Zeit zu unterhalten vermöchte. Unter noch nicht aufgeklärten Umständen mißlang das Experiment zuweilen derart, daß das Herz nach 7—10 Min. stillstand; in der Regel schlug es kräftig und frequent, 100—150 mal pro Minute, je nach der Temperatur während einer guten Stunde, worauf der Versuch abgebrochen wurde. Wurden die Pulsationen schwächer, so genügte kurze Abkühlung die Schlagfolge zu mäßigen und die Contraktionen zu kräftigen, worauf erneutes Erwärmen wieder zahlreiche und mächtige Schläge hervorrief. Durch Aussetzen der Athmung erlosch erst die Thätigkeit der Ventrikel, während die der Vorhöfe noch sehr frequent blieb; in diesem Stadium kehrte mit der Athmung die frühere energische Thätigkeit der Ventrikel zurück. Mehrere Male gelang es, den Vorgang 2 Stunden und länger zu erhalten.

An den fortschlagenden Kaninchenherzen waren sämmtliche Versuche über secundäre Zuckung vorzüglich und mit aller Muße auszuführen und wenn auch curarisirte Gastrocnemien versagten, so zeigten doch die M. sartorii, deren Endstrecken in richtiger Weise mit der Spitze und Basis des Herzens in leitende Verbindung gesetzt waren, während langer Zeit einen Theil der Herzschläge durch secundäre Zuckungen an, welche mittelst einer auf das andere Ende des Muskelbändchens gelegten N. ischiadicus an einem Froschschenkel durch tertiäre Zuckungen weiter sichtbar gemacht werden konnten.



Beobachtungen zur Anatomie und Physiologie der Retina.

Von

W. Kühne.

---

1. Netzhaut des Menschen.

Nach einer am 16. November 1880 in Bruchsal vollzogenen Hinrichtung eines 31jährigen gesunden Mannes fand sich Gelegenheit eine Netzhaut frisch zu untersuchen, deren Verwendung zum Sehen bis zum Tode genau festgestellt worden war. Drei Minuten nachdem das Fallbeil den Kopf unterhalb der Medulla oblongata getrennt hatte, waren am Körper keine Reflexe mehr zu erzeugen, auch nicht das Kniephänomen, während sich bei der Enucleation des Auges noch starke Bewegungen der Umgebung störend bemerklich machten. Die Präparation geschah in einem schwach erhellten Raume, hinter einem Schirme von rothem und gelbem Glase. Etwa 10 Min. nach dem Tode war die Retina des linken Auges (das rechte wurde andern Zwecken vorbehalten), nach Ausbohrung der Papille und Entfernung des unter Salzwasser auffallend locker haftenden Glaskörpers, bis zum Aequatorialschnitte vollkommen erhalten, mit der Rückseite nach oben freigelegt. Mit Ausnahme der Macula lutea und deren nächster Umgebung erschien die Stäbchenfläche gleichmäßig hellrosa, etwas heller als bei Dunkelaugen, indeß intensiv genug, um im unteren, äußeren Theile ein scharfbegrenztes Optogramm erkennen und vor mehreren Collegen demonstriren zu können. Die Form des Bildchens war diese bei 2 und 3—4 mm Seitenlänge; da der Stäbchenbesatz sich innerhalb der farblosen Fläche überall erhalten zeigte, so handelte es sich um kein Pseudooptogramm. An dem trüben Herbstmorgen blieb das Bild etwa 5 Min. sichtbar.

Die mikroskopische Untersuchung der gegen ein Deckglas mit der Rückfläche ohne Druck angelegten Netzhaut ergab an einigen Stellen Besatz durch kleine Gruppen von Pigmentepithelien, und das Anhaften einer solchen, schon makroskopisch erkannten Zellgruppe grade hinter der fovea centralis. Es hatte dies besonderes Interesse, weil man sehen konnte, daß jeder der an diesem Orte bekanntlich besonders kleinen Epithelzellen groß genug war, um eine beträchtliche Anzahl von Zapfenaußengliedern zu um-

fassen und weil man die Köpfe der schmalen Außenglieder nach hinten, durch den in diesen Epithelzellen recht dunklen und dichten Fuscinbrei ragend das Licht ungestört durchlassen sah. Im Uebrigen bot die Netzhaut das oft geschilderte Bild der eleganten Stäbchen-Zapfenmosaïk dar, an welchem mir nur der ausgeprägte Glanz der Zapfeninnenglieder auffiel. Die Retina wurde nach dieser Beobachtung sofort in $^1/_2$ pCt. NaCl und $^1/_2$ pCt. OsO_4 conservirt, ebenso der entleerte Bulbus zur Untersuchung des Epithels. Die ora serrata retinae erschien bis vorn hin, wo ihr viel Fuscin anhaftete, rosa. Der Augengrund war hell nußbraun, in der Gegend der Macula lutea tiefer gefärbt, an der Stelle der fovea, wol wegen des Epithelverlustes etwas heller. (Der Delinquent hatte dunkelblondes Haar, bei grünbläulicher Irisfarbe.) Von den gehärteten Präparaten ist nur zu berichten, daß sie *M. Schultze*'s Faserkörbe mit höchster Evidenz zeigten und daß an den Zapfeninnengliedern häufig tiefe, der Faserung entsprechende Zerklüftungen vorkamen. Ferner fielen in ziemlich regelmäßigen Abständen zwischen den gewöhnlichen Formen zerstreute Zapfen auf, mit dunkler braun gewordenen Außengliedern, deren hinteres Ende zu einem Haufen zarter Körnchen zerging. Die bauchigen Innenglieder dieser Zapfen schienen von den übrigen nicht verschieden. Die Pigmentepithelien waren ohne Ausnahme mit einer ziemlich hohen fuscinfreien Kuppe versehen, überzogen von der durch doppelte Contouren kenntlichen, von *Kuhnt* entdeckten membranösen Kappe. Dicht unter dem Keratindeckel fand sich in den meisten Zellen eine zierliche Reihe, sehr kleiner, glänzender von der OsO_4 nicht tingirter Körner. Auf die Kuppe folgte nach vorn eine fast doppelt so hohe Lage dichten Fuscins, rückwärts scharf begrenzt, vorn in etwa ebenso lange fuscinführende Bartfäden übergehend.

Das Interesse concentrirte sich in diesem Falle auf die Herkunft des Optogramms und auf die Erhaltung des Sehpurpurs nach dem vorausgegangenen Gebrauche des Auges. Bezüglich des ersteren Punktes ist das Suchen nach dem Objecte trotz eingehender Beachtung aller Umstände und zahlreicher Zeugenaussagen leider vergeblich geblieben. Ueber die Belichtung intra vitam ist zu berichten, daß der Delinquent die Nacht wachend bei dem Lichte einer Stearinkerze zubrachte, von 4—5 Uhr Morgens schlief, bis zur Dämmerung erst bei demselben Lichte und weiter im schwachen Tageslichte bis 8 Uhr las und schrieb. Die Zelle erhielt Licht durch ein hoch angebrachtes, etwa 1 □Meter großes, nach Westen gelegenes Fenster mit freiem Ausblick. Beim Austritte des Delinquenten in's Freie war die Sonne nach Aussage einiger zuverlässiger Beobachter einen Augenblick hervorgetreten und der Himmel während 7 Min. bis zum Anlegen der Augenbinde und der gleich darauf erfolgten Execution etwas heller geworden; doch soll der Delinquent den Blick wenig erhoben haben.

Der Befund an der Retina beweist, daß die Stäbchenfarbe des Menschen durch stundenlangen Gebrauch des Auges bei mäßigem, aber ausreichendem Lichte nur unerheblich abnimmt.

2. Notiz über die Augen einiger Nachtthiere.

a) **Caprimulgus europæus.** Die im Verhältniß zum Kopfe sehr großen, zur Seite gerichteten Augen der Nachtschwalbe haben die trichterförmige Gestalt des Eulenauges, mit breitem Knochenringe im verengten Theile der Sclera; sie sind nur hinten weniger platt. Von einem lebend erhaltenen, sehr munteren Caprimulgus, der 24 Stunden im Dunkeln verwahrt worden, wurden die Retinae vor Natronlicht präparirt. Nur an einem Auge löste sich die Netzhaut gut ab, vom andern kam sie in Fetzen und größtentheils von Pigmentepithel bedeckt heraus. Zu meinem Erstaunen war an der mit allen Stäbchen und Zapfen besetzt gebliebenen Membran keine Spur von Sehpurpur zu sehen, makroskopisch überhaupt keinerlei Färbung. Dennoch fanden sich größere Theile nach hinten zunächst nur von feinen cylindrischen Stäbchenaußengliedern dicht überzogen, halb so dick nur, wie bei der Eule und etwa um $^2/_3$ kürzer. Erst in der Tiefe nach vorn tauchten zwischen diesen, bis zur scheinbaren gegenseitigen Abplattung zusammentretenden Cylindern an den stärkeren Innengliedern kenntliche Zapfen in mäßiger Zahl auf. An andern Stellen der Retina waren mehr Zapfen zu finden, darunter viele Doppelzapfen. Die Mehrzahl der Zapfen ist an der Grenze von Innen- und Außenglied mit farblosen oder nahezu farblosen, glänzenden Kugeln versehen, die nur je einem Gliede der Zwillingszapfen fehlen. Außerdem kommen sehr vereinzelt, jedoch in etwas größerer Anzahl als bei den Eulen, besonders kleine rothe, orangefarbene und gelbliche Zapfenkugeln vor.

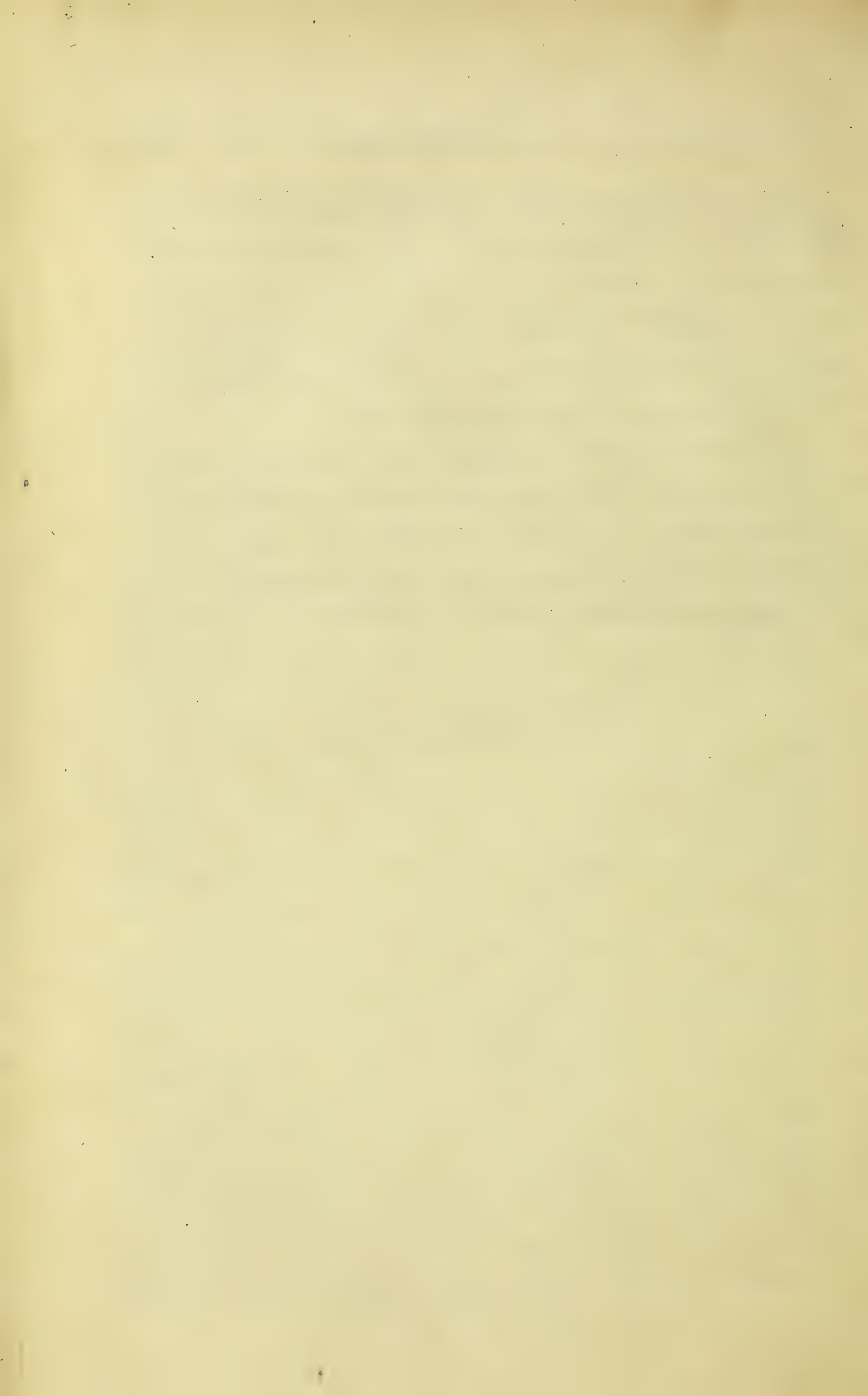
Die Stäbchen sind genau cylindrisch, sowol das Innen-, wie das Außenglied; an der äußeren Grenze des ersteren befindet sich ein größerer, stärker lichtbrechender, fast cylindrischer Körper, an dessen vorderer Fläche eine viel kleinere, fast kugelige, bedeutend stärker brechende Linse liegt. Abweichend von allen mir sonst bekannten Zapfen fand ich die in den stäbchenreichsten Stellen der Netzhaut auftretenden. Das bauchige, mit Fettkugel und vorgelegtem Paraboloïd versehene Innenglied ist länger als das der nebenliegenden Stäbchen, so daß es dieses nach hinten erheblich überragt und das conische Außenglied ist seinerseits lang genug, um mit den abgestutzten Enden der Stäbchen in's gleiche Niveau zu fallen. Hierauf beruhte, die anfängliche Schwierigkeit, die Zapfen unter zahlreichen Stäbchen von der Rückfläche aufzufinden. An OsO_4-Präparaten sah ich übrigens auch lange Zapfen mit kürzerem Innengliede und verhältnißmäßig noch längerer, durch das Außenglied gebildeter conischer Spitze.

An der anderen, mit dem Epithel herausbeförderten Netzhaut sah man nahezu sämmtliche Stäbchen und die längeren Zapfen durch den Fuscinbrei hindurchschimmern. Die Epithelzellen zeigten in der fuscinfreien Kuppe eine vordere, durch OsO_4 stahlgrau gefärbte, den Kern einschließende und eine ebenso breite hintere farblos gebliebene Schicht, durch eine scharfe Grenze voneinander geschieden. Myeloïdkörner und Oeltropfen wurden darin nicht gefunden. Die Stäbchenaußenglieder wurden durch OsO_4 stahlgrau, ähnlich die Paraboloïde und die ganze granulirte Schicht der Retina, während die Zapfenaußenglieder garkeine Osmiumfärbung annahmen.

b) **Myoxus glis**, ebenfalls als Nachtthier bekannt, hat ähnlich vorspringende dunkle Augen, wie die Ratte, mit großer, jedoch nicht so kugliger Linse. Die Retina des dunkel gehaltenen Thieres ist intensiver purpurn gefärbt, selbst als die der Ratte; die Stäbchen sind so dünn, wie die des Kaninchens, aber wenigstens 3 mal so lang. Zapfen waren weder in der frischen Stäbchenmosaïk noch im OsO_4 Präparat zu entdecken.

c) **Vespertilio serotinus.** Auch dieser Fledermaus fehlt der Sehpurpur.





a B C D E b F G h

10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22

Fig:

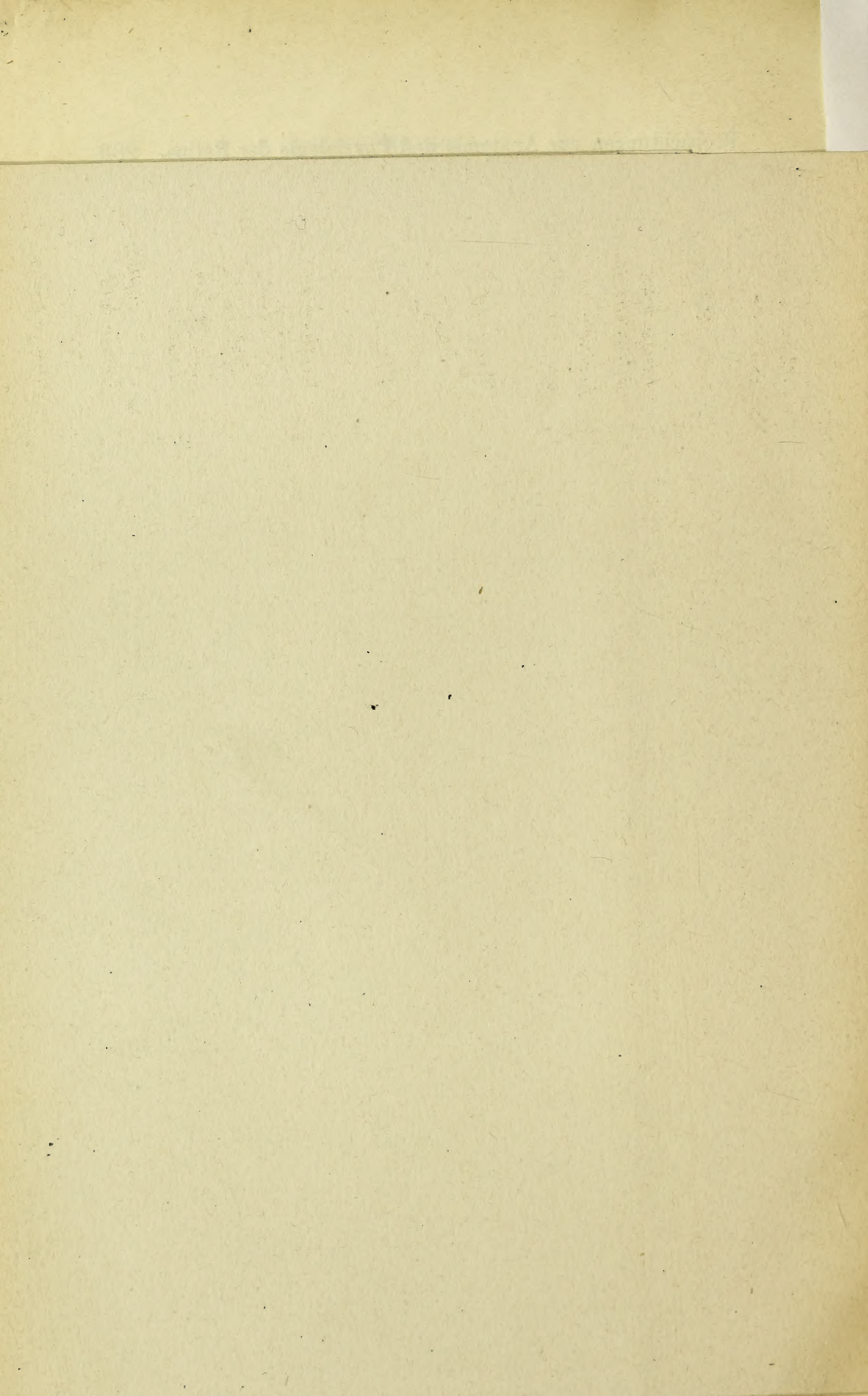
1a. Luteïn in Aether (nach Verseifung)
" b. " " (vor Verseifung)
2. Elaeochrin in Aether.
3a. Lecitochrin in Aether (nach Verseifung)
" b. " " (vor Verseifung)
4. Luteïn in CS_2.
5. Elaeochrin in CS_2.
6. Lecitochrin in CS_2.
7. Palmöl.
8. Luteïn in Oel.
9. Lecitochrin in Oel.
10. Hühnerretinae in Oel.
11. " " in Alkohol.
12. " " in Aether, verdünnt.
13. Taubenretinae in Oel.
14. " " in Aether.
15. Seifen aus Hühnerretinae in Alkohol und Chloroform.
16. Hühnerretinae in Alkohol u. Chloroform.
17. Seifen aus Hühnerretinae in Oel.
18a. Hühnerretinae in Alkohol.
" b. " " in CS_2.
" c. Retina-Epithel vom Frosch in Alkohol.
" d. Corpora Lutea in Alkohol.
" e. " " in CS_2.
" f. Eidotter vom Huhn in Alkohol.
19a. Carotin in Aether.
" b. " " in Oel.
" c. " " in CS_2.
20a. Rhodophan in CS_2.
" b. " " in Oel.
" c. " " in Aether.
" d. " " in PO_4H_3 enth. Alkohol.
" e. " " in NH_3 enth. Alkohol.
21a. Xanthophan in CS_2.
" b. " " in Oel.
" c. " " in Aether.
22a. Chlorophan in CS_2.
" b. " " in Oel.
" c. " " in Aether.
" d. " " in Alkohol.

10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22

a B C D E b F G h

Lith. Anst. v. F. Wirtz, Darmstadt.

Carl Winter's Universitätsbuchhandlung, Heidelberg.





C. F. Winter'sche Buchdruckerei.